



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STAVEBNÍ

FACULTY OF CIVIL ENGINEERING

ÚSTAV VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ OBCÍ

INSTITUTE OF MUNICIPAL WATER MANAGEMENT

**ODBOURÁVÁNÍ VYBRANÝCH XENOBIOTIK NA
KOMUNÁLNÍCH ČISTÍRNÁCH ODPADNÍCH VOD**

REMOVAL OF SELECTED XENOBIOTICS AT MUNICIPAL WWTP'S

DIZERTAČNÍ PRÁCE

DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ing. Adéla Žižlavská

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Petr Hlavínek, CSc., MBA

BRNO 2018



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ FAKULTA STAVEBNÍ

Studijní program	P3607 Stavební inženýrství
Typ studijního programu	Doktorský studijní program s kombinovanou formou studia
Studijní obor	3607V027 Vodní hospodářství a vodní stavby
Pracoviště	Ústav vodního hospodářství obcí

ZADÁNÍ DISERTAČNÍ PRÁCE

Student	Ing. Adéla Žižlavská
Název	Odbourávání vybraných xenobiotik na komunálních čistírnách odpadních vod.
Vedoucí práce	prof. Ing. Petr Hlavínek, CSc., MBA
Datum zadání	
Datum odevzdání	V termínech určených časovým harmonogramem akademického roku, nejpozději do jednoho roku od data zadání disertační práce

V Brně dne

doc. Ing. Ladislav Tuhovčák, CSc.
Vedoucí ústavu

prof. Ing. Miroslav Bajer, CSc.
Děkan Fakulty stavební VUT

PODKLADY A LITERATURA

ZÁSADY PRO VYPRACOVÁNÍ

STRUKTURA DISERTAČNÍ PRÁCE

VŠKP vypracujte a rozčleňte podle dále uvedené struktury:

1. Textová část VŠKP zpracovaná podle Směrnice rektora "Úprava, odevzdávání, zveřejňování a uchovávání vysokoškolských kvalifikačních prací" a Směrnice děkana "Úprava, odevzdávání, zveřejňování a uchovávání vysokoškolských kvalifikačních prací na FAST VUT" (povinná součást VŠKP).
2. Přílohy textové části VŠKP zpracované podle Směrnice rektora "Úprava, odevzdávání, zveřejňování a uchovávání vysokoškolských kvalifikačních prací" a Směrnice děkana "Úprava, odevzdávání, zveřejňování a uchovávání vysokoškolských kvalifikačních prací na FAST VUT" (nepovinná součást VŠKP v případě, že přílohy nejsou součástí textové části VŠKP, ale textovou část doplňují).

prof. Ing. Petr Hlavínek, CSc., MBA
Vedoucí disertační práce

ABSTRAKT

Rozvoj chemického a farmaceutického průmyslu a masivní užívání syntetických látek v různých odvětvích se pro naši společnost stalo nepostradatelným. Společně však s komfortem, jaký nám tento pokrok přinesl, jsme vytvořili zcela nový druh znečištění. Jedná se o skupinu látek, jež pro své účinky na živé organismy představuje daleko větší nebezpečí než „běžné“ organické znečištění. Vzhledem k jejich cizorodému původu vůči sloučeninám přirozeně se vyskytující v životní prostředí jsou označovány názvem „Xenobiotika“. Jedná se o skupinu zahrnující velké množství různorodých substancí, s nesterilními fyzikálními, chemickými a biologickými vlastnostmi jako jsou například farmaka, pesticidy, detergenty, barvy, laky, plastové obaly, potravinářská aditiva, kosmetické produkty a mnohé další. Ačkoli se tyto látky do vodního cyklu začali dostávat již od 30 let 20. století jejich koncentrace se často pohybuje, až na samé hranici detekčního limitu, proto začala být jejich přítomnost ve vodách zkoumána podrobněji až v letech 80. a to v návaznosti na rozvoj analytických technologií chemického složení vod. Hlavní nebezpečí těchto látek spočívá v tom, že primárně nezneškodňují životní podmínky organismů (tj. nesnižují kvalitu vody), ale ovlivňují přímo samotné organismy a to buď matením endokrinního systému nebo přímo poškozováním RNA či DNA, což vyvolává mutagenní změny, rakovinotvorné bujení, vrozené vady, metabolické poruchy, změny pohlaví, degeneraci reprodukčních schopností celých populací či vymizení pudu sebezáchovy. Zdrojem xenobiotik ve vodním cyklu potažmo v celém životním prostředí jsou prokazatelně převážně odpadní vody, přičemž ke kontaminaci dochází skrze čistírny odpadních vod, jež nejsou konstruovány na odbourávání tohoto typu znečištění.

Dizertační práce se věnuje problematice xenobiotik v odpadních vodách, přičemž je rozdělena na část teoretickou a praktickou. Teoretická část podrobně shrnuje současný stav poznání problematiky xenobiotik v odpadních vodách od jejich historie, původu, klasifikace, možnosti eliminace až po dopady na životní prostředí a lidskou společnost. Praktická část dizertační práce pak řeší účinnosti dřevokazných hub při odbourávání vybraných xenobiotik z odpadních vod a vývoj bioremediační technologie s bionosičem inokulovaným myceliem dřevokazných hub, jež by bylo možné prakticky aplikovat při terciálním dočišťování odpadních vod.

KLÍČOVÁ SLOVA

Xenobiotika, mikropolutanty, odpadní vody, dřevokazné houby, životní prostředí, technologie čištění odpadních vod, bioremediace, biofiltrace.

ABSTRACT

The development of the chemical and pharmaceutical industry and the massive use of synthetic substances in various industries has become indispensable for our society. Unfortunately, this progress has brought a whole new kind of pollution. It is a group of substances which imagine for living organisms' greater risk than 'normal' organic pollution. Because they have extraneous origin compared with naturally occurring compounds, they are called "Xenobiotics." It is a group comprising a large number of different substances, with dissimilar physical, chemical and biological properties such as pharmaceuticals, pesticides, detergents, paints, varnishes, plastic packaging, food additives, cosmetic products, drugs, and many others. Although these substances began to enter the water cycle as early as 30 years of the 20th century, their concentration often moves to the limit of the detection limit, so their presence in the water began to be examined in more detail in the 1980s, following the development of analytical technologies chemical composition of water. The main danger of these substances is that doesn't primarily effect on water quality, but directly affect on the organisms by confusing of the endocrine system or by directly damaging RNA or DNA, causing mutagenic changes, cancer-causing proliferation, birth defects, metabolic disorders, gender changes, the degeneration of reproductive capacity of entire populations or the disappearance of self-preservation instinct. The source of xenobiotics in the water cycle is predominantly wastewater, which generated through the wastewater treatment, which not designed to eliminate this type of pollution.

he dissertation thesis deals with the issue of xenobiotics in wastewater and is divided into the theoretical and experimental part. The theoretical part summarizes the xenobiotics current state of knowledge in wastewater from their history, origin, classification, possibilities of elimination to impacts on the environment and human society. The experimental part of the thesis deals with the effects of wood-decay fungi in the degradation of selected xenobiotics from wastewater and the development of bioremediation technology with a biofilter inoculated with mycelium of wood-destroying fungi, which could be practically applied in the tertiary stage of wastewater treatment.

KEYWORDS

Xenobiotics, micro-pollutants, waste water, wood-burning fungi, environment, wastewater treatment technology, bioremediation, biofiltration.

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE VŠKP

Ing. Adéla Žižlavská Odbourávání vybraných xenobiotik na komunálních čistírnách odpadních vod.. Brno, 2019. 183 s., 15 s. příl. Disertační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Ústav vodního hospodářství obcí. Vedoucí práce prof. Ing. Petr Hlavínek, CSc., MBA

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem disertační práci s názvem Odbourávání vybraných xenobiotik na komunálních čistírnách odpadních vod. zpracoval(a) samostatně a že jsem uvedl(a) všechny použité informační zdroje.

V Brně dne 28. 5. 2019

Ing. Adéla Žižlavská
autor práce

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému vedoucímu dizertační práce prof. Ing. Petru Hlavínkovi, CSc., MBA. za čas, cenné rady a pomoc, kterou mi poskytl během doktorského studia a při tvorbě této dizertační práce. Kolegyním z chemické fakulty Tereze Švestkové a Petře Sukové za zpracování chemických analýz a výpomoc při tvorbě metodiky testování. Dále bych pak chtěla poděkovat kolegům a kolegyním z výzkumného centra AdMaS za poskytnutí prostoru a technického zázemí pro realizaci laboratorních pokusů a měření. V neposlední řadě patří můj dík celé mojí rodině, která mne intenzivně podporovala během celé doby studia. Obzvláště bych chtěla poděkovat svému manželovi Davidovi, rodičům, sestře a svým dětem.

Svou dizertační práci bych ráda věnovala svým rodičům. Z celého srdce Vám děkuji.

Obsah

ÚVOD.....	12
CÍLE A PŘEDMĚT DIZERTAČNÍ PRÁCE.....	13
TEORETICKÁ ČÁST.....	14
1 Terminologie.....	14
2 Historie.....	14
3 Legislativní rámec ochrany vodního cyklu před xenobiotiky	16
4 Klasifikace, původ, zdroje xenobiotik.....	19
4.1 Popis a původ vybraných skupin léčiv.....	32
4.1.1 Analgetika.....	32
4.1.2 Antibiotika.....	36
4.1.3 Cytostatika	41
4.1.4 Farmaka pro léčbu duševních onemocnění.....	44
5 Detekce xenobiotik v odpadních vodách a jejich základní chemicko-fyzikální parametry	46
6 Dopad, účinek xenobiotik na životní prostředí.....	48
7 Metody klasifikace a rizikové analýzy	51
8 Metody detekce.....	52
8.1 Chemické analýzy.....	52
8.2 Invitro biotesty.....	53
9 Možnosti eliminace xenobiotik z odpadních vod.....	53
9.1 Faktory ovlivňující degradaci xenobiotik.....	53
9.2 Metody chemické degradace.....	54
Srážení pomocí solí hliníku a železa.....	54
Chlorace.....	55
AOPs.....	55
9.3 Metody biologické degradace – Metody s aktivovaným kalem.....	56
9.4 Sorpční procesy	57
9.5 Bioremediace(fytoremediace).....	57
Fytoremediace.....	58
9.6 Metody fyzikální degradace	58
Membránové technologie	58
10 Závěr teoretické části	59
PRAKTICKÁ ČÁST	60
Úvod do praktické části dizertační práce.....	60
1 FÁZE – Návrh technologie.....	62

1.1	Stanovení základního paradigma technologie na základě aplikace dřevokazných hub v problematice odbourávání xenobiotik z životního prostředí.....	62
1.2	Návrh konstrukčního uspořádání laboratorního modelu.....	73
1.3	Návrh nosného biofiltru	75
1.3.1	Substrátový biofiltr v koších.....	76
1.3.2	3D kostky	77
2	FÁZE – Metodika inokulace a fruktifikace	84
2.1	Sběr vzorků	84
2.2	Inokulace a fruktifikace.....	87
2.2.1	Inokulace substrátového nosiče:.....	87
2.2.2	Inokulace kostek:.....	89
3	FÁZE – Testování.....	90
3.1	Sulfonamidová antibiotika – selekce testovaných xenobiotik.....	90
3.2	Testování – substrátový biofiltr	95
3.2.1	Metodika testování biofiltr v koších.....	95
3.2.2	Vyhodnocení testu.....	97
3.3	Testování – 3d kostky.....	98
3.3.1	Návrh metodiky testování.....	98
3.4	Testování 3D kostek	98
3.4.1	Print screen test.....	98
3.4.2	Set-up testy.....	104
3.4.3	Test růstu mycelia.....	105
4	Vyhodnocení testů.....	105
4.1	Print screen test.....	106
4.2	Setup test.....	108
4.2.1	Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 20 µg.l ⁻¹	108
4.2.2	Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 100 µg.l ⁻¹	115
4.2.3	Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 1 mg.l ⁻¹	122
4.2.4	Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 2 mg.l ⁻¹	124
4.2.5	Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 20 µg.l ⁻¹ v odpadní vodě	126
4.2.6	Porovnání účinnosti odbourávání v modelové vodě a odpadní vodě	134
5	Vyvození obecných závěrů a podmínek aplikace dřevokazných hub v oblasti terciálního čištění odpadních vod na komunálních ČOV na základě praktické části dizertační práce	135
6	Přínosy dizertační práce.....	137
6.1	Přínos pro vědní obor.....	137
6.2	Přínos pro praxi	138
6.3	Návrh dalšího postupu.....	138
	ZÁVĚR	138

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	141
BIBLIOGRAFIE.....	141
SEZNAM TABULEK	158
SEZNAM VZORCŮ	160
SEZNAM OBRÁZKŮ	161
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	166
PŘÍLOHA DIZERTAČNÍ PRÁCE	168

ÚVOD

Díky pokroku v oblasti rozvoje technologií analýzy složení vody byl v posledních třiceti letech pozorován v přírodních vodách zvýšený výskyt substancí, které nejsou přirozenému vodnímu prostředí vlastní. Ten to stav je důsledkem rozvoje chemického a farmaceutického průmyslu a masivního užívání chemikálií v různých výrobních či zpracovatelských odvětvích, jež se pro naši společnost stalo nepostradatelným. Jedná se o rozsáhlou skupinu látek zahrnující farmaka, pesticidy, detergenty, barvy, laky, plastové obaly, potravinářská aditiva, kosmetiku a mnohé další [1]. Vzhledem k jejich cizorodému původu vůči běžnému organickému znečištění bývají označovány jako „Xenobiotika“. Název je odvozen z latinských výrazů pro *xenos* – cizí a *bios* – biologické. Jedná se často o látky se zcela diferenciálními chemicko-fyzikálními vlastnostmi jejichž koncentrace ve vodách se pohybuje v řádech ng.l^{-1} - $\mu\text{g.l}^{-1}$. Nicméně i přesto jsou jejich účinky na živé organismy ve srovnání s běžným organickým znečištěním dalekosáhleji nebezpečnější. Neboť primárně nezhodnocují stav vody, ale přímo ovlivňují fungování organismů až na genetické úrovni a mohou tak evokovat karcinogenní bujení, mutagenní či teratogenní změny, ovlivňovat reprodukční potenciál či potlačovat pud sebezáchovy a jsou takto schopny postihovat i několik dalších subpopulací¹ za sebou i přestože další generace už nebyla vystavena expozici s danou látkou [2].

Xenobiotika jsou vůči běžným biologickým a chemickým degradačním procesům, odehrávajících se v přírodě či během konvenčního čištění odpadních vod, povětšinou zcela perzistentní díky čemuž pak mnoho z těchto látek prakticky prochází čistírenským cyklem a volně se dále šíří do povrchových vod odkud může pronikat do vod podzemních a kontaminovat zdroje pitné vody (xenobiotika jako například pesticidy jsou běžně nalézány i ve vodách pitných) [3; 4; 5; 6]. Navíc se do vod dostávají nejen v původní tzv. mateřské formě, ale také ve formě metabolitů, jež během transportů od původce až do recipientu (či v procesu čištění vody na ČOV) mohou dekonjugovat² zpět do mateřské formy nebo utvářet nové konjugáty s jinými látkami, jež jsou přítomny ve vodě [7]. Navíc v současné době nedisponujeme technologiemi ani znalostmi, abychom byli schopni takovéto reakce sledovat nebo alespoň predikovat. Xenobiotika představují v přírodních vodách potažmo vodních zdrojích velmi nebezpečnou hrozbu pro všechny živé organismy, člověka nevyjímaje. V současnosti se problematika těchto látek začíná konečně poněkud intenzivněji řešit a eliminace těchto látek je v zájmu jak evropské unie, tak například i OSN, WHO, USEPA a mnoha jiných.

¹ Subpopulace (demy, mendelistické populace) – základní jednotka genetiky populací, představuje lokální geograficky příslušnou populaci daného druhu.

² Dekonjugace – nejznámějším příkladem toho procesu je přeměna kyseliny glukonorové a sírové (konjugátů), jež vznikajících v ženském těle po užití hormonální antikoncepce. Hormonální antikoncepce obsahující např. ethinylestradiol po požití putuje do střeva, kde dochází k jejímu rozložení a vstřebání do těla skrze játra. Z jater se část z nich dál šíří do organismu a část utváří konjugáty, jež opět putují do střeva, kde je přítomné bakterie dekonjugují zpět na hormon ten se opět vstřebá a celý cyklus se opakuje (enterohepatální oběh) podle nejnovějších studií bylo zjištěno, že tento proces konjugací a dekonjugace probíhá nejen v tělech živočichů, ale prakticky v celém ekosystému tzn. i v kanalizaci, na ČOV apod.

CÍLE A PŘEDMĚT DIZERTAČNÍ PRÁCE

Předmětem dizertační práce je komplexní shrnutí současného stavu problematiky xenobiotik v městských odpadních vodách ve všech jejích aspektech jako je historie, legislativní rámec, dopady na životní prostředí apod. Podrobněji pak práce řeší vývoj bioremediační technologie využívajícího ligninocelulózního metabolismu dřevokazných hub za účelem odbourávání vybraných xenobiotik z odpadních vod. Cílem práce je navrhnout laboratorní model bioremediační technologie, jež bude pracovat na výše uvedeném principu, jehož fungování bude ověřeno v laboratorních podmínkách.

Hlavní kroky zpracování dizertační práce:

1. Rešerše dostupné literatury a zajištění podkladů o současné problematice výskytu, klasifikace, chování, testování a eliminaci xenobiotik v městských odpadních vodách.
2. Definování funkce základních parametrů navrhované bioremediační technologie.
3. Definování metod a postupů testování bioremediačního zařízení.
4. Návrh laboratorního modelu a jeho součástí.
5. Definování metod a postupů sběru, uchovávání a inokulace dřevokazných hub.
6. Testování a verifikace nosných biofiltračních médií (substrát, 3D kostky).
7. Konstruování laboratorního modelu.
8. Ověření technologie v laboratorních podmínkách na základě předepsaných testovacích metodik.
9. Analýza naměřených dat.
10. Vyvození obecných závěrů a základních podmínek pro aplikaci technologie.

Výsledky dizertační práce:

- Laboratorní jednotka a její součásti.
- Poznatky o inokulaci dřevokazných hub na biofiltrační náplně určené pro čištění odpadních vod.
- Unikátní nosný biofiltr vyrobený 3D tiskem.
- Souhrn poznatků o chemických a fyzikálních pochodech během testování technologie.
- Podklady pro návrh poloprovozního zařízení.

TEORETICKÁ ČÁST

1 Terminologie

Terminologie v oblasti nově vznikajících znečišťujících látek není zcela jednotná, proto je možné se v literatuře setkat i s jinými názvy jako například s názvem "persistentní toxické látky" (PTS = Persistent Toxic Substances) popřípadě PBT – persistentní, bioakumulativní a toxické látky, nebo s označením mikropolutanty odvozeného od nízkých koncentračních rozmezích, ve kterých se tyto látky ve vodě vyskytují. V evropské legislativě je často také uváděn výraz prioritní znečišťující látky v asijské legislativě je zase používán výraz CECs – contaminants of emerging concern.

Jednotná není ani terminologie v oblasti podskupin například v případě podskupiny persistentních toxických organických látek zahrnující polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), pesticidy, ftaláty, alkyfenoly, etoxyláty, dioxiny, furany, polycyklické chlorované bifenyly. Především v mezinárodních konvencích či evropských směrniciích je tato skupina nazývána "persistentní organické polutanty" (POPs) naopak ve vědecké literatuře zaměřené na čistotu dešťových a povrchových vod, je tato stejná podskupina označovaná jako XOC, popř. XOC's (Xenobiotic organic compounds). V případě našeho předního odborníka na hydrochemii, prof. Pitra, patří mezi xenobiotika organické látky antropogenního původu [8].

Pro potřeby této dizertační práce bude primárně používán název Xenobiotika a nicméně v kapitolách věnovaných legislativě či v případě zahraničních citací se v textu mohou objevit i výše zmíněné názvy. V případě terminologické odchylky či nejednotnosti v názvech bude na toto vždy upozorněno poznámkami pod čarou.

2 Historie

Prvním průkopníkem v oblasti identifikování xenobiotik byla Rachel Carson, americká zooložka a mořská bioložka, která v roce 1962 vydala dnes již legendární knihu s názvem „Silent spring“ (Tiché jaro) [9] v níž upozorňovala na negativní účinky masivního užívání postřiků DDT a insekticidů. Kniha „Silent spring“ vzbudila velký ohlas veřejnosti jak v Americe, tak v zámoří.

Následkem mediálního tlaku, který kniha vyvolala, si americká vláda nechala zpracovat podrobnou studii zabývající se dopadem DDT a vybraných insekticidů na životní prostředí, na jejímž základě pak bylo v roce 1972 užívání DDT v USA zakázáno.

Rozvoj moderních laboratorních technik umožnil také vývoj mnoha nových léků, z nichž mnozí z jejich objevitelů získali Nobelovu cenu, jako je například Alexander Fleming nebo Selman Abraham Waksman, za objev antibiotik. Dalšími důležitými milníky v této oblasti byly objevování purinového metabolismu (Gertrude Elion a George H. Hitchings) [10], beta-blokátory, cimetidin [11] a statiny [12]. Další průkopník ve vývoji chemické analogie známých účinných látek byl David Jack Allen Hanbury, který později obhajoval vývoj inhalovaného selektivního beta2-adrenergního agonisty pro léčbu astmatu [13]. Následoval vývoj antivirotik, hormonální antikoncepce, imunosupresiva transplantace orgánů, léky používané při protinádorové léčbě.

Od šedesátých let pak začíná masivně narůstat spotřeba nových léčiv, jako jsou hormonální antikoncepce, různé typy antidepressiv, léčivé látky proti rakovině. Velké nadšení, s jakými byla tato léčiva přijata, způsobuje, že nikdo není hluboce znepokojen jejich dopadem na životní prostředí.

V roce 1965 pak Stumm-Zollinger a Fair ukázali, že steroidní hormony zjištěné při přítoku do čistírny odpadních vod byly nalezeny i na výpusti [14].

V roce 1988 americká profesorka zoologie Theo Colbornová odhalila při výzkum stavu životního prostředí oblasti Velkých jezer v Severní Americe, že perzistentní syntetické chemikálie vyskytující se v těchto vodách ovlivňují genetický vývoj živočichů [15]. Vzhledem k tomuto faktu, v roce 1991 byla svolána 21. mezinárodní vědecká konference, na níž byli sezváni vědci z 15 různých vědních disciplín. Konference se odehrála v americkém Wingspreadu a nesla název „Chemikálie vyvolávající změny v pohlavním vývoji: Spojitost mezi člověkem a přírodou.“ Zde poprvé byl zmíněn a vysvětlen pojem endokrinní disrupce [16]. Na základě širokého zájmu veřejnosti pak Theo Colbornová v roce 1996 vydává knihu s názvem „Naše ukradená budoucnost“ (jež se zabývá dopadem Xenobiotik na přírodu a potažmo i lidské zdraví) [17]. V roce 1997 je vydáno v rámci G8 prohlášení o účincích xenobiotik na životní prostředí a na zdraví dětí. V tomto prohlášení byla stať věnovaná chemikáliím, které narušují a ohrožují zdraví dětí, cituji [18]:

“ Existují vědecké důkazy, že řada látek znečišťujících životní prostředí může mít nepříznivé účinky na zdraví skrze jejich schopnost měnit funkce hormonů v těle. Tyto účinky, které zahrnují rakovinu, reprodukční poruchy, změny v chování a imunitní dysfunkce, byly pozorovány jak u laboratorních zvířat, jež byli vystavených konkrétním chemickým látkám, tak u volně žijících populací v několika široce kontaminovaných ekosystémech, jako jsou oblasti Velkých jezer. Některé z těchto látek jsou také schopny způsobit dlouhodobé neurologické poškození. Kojenci a děti mohou být vystaveni určitému riziku potenciálního vlivu těchto nečistot. Doporučujeme pokračující úsilí v sestavení mezinárodního seznamu výzkumných aktivit, rozvoje mezinárodního hodnocení stavu vědy, identifikovat a upřednostnit potřeby výzkumu a chybějících dat, a vytvořit mechanismus pro koordinaci a spolupráci při plnění výzkumných potřeb. Tyto činnosti by měly doplňovat iniciativy, které jsou sledované v mezinárodních fórech, (jako je např. mezivládní fórum pro chemickou bezpečnost odst. FISC) a prostřednictvím činnosti agentur, jako je Organizace spojených národů pro životní prostředí. Zavazujeme se rozvíjet strategie pro prevenci znečištění, identifikovat hlavní zdroje a vlivy chemikálií narušujících endokrinní činnosti a budeme i nadále informovat veřejnosti získaných znalostí.”

Postupně v příštích letech probíhají další a další studie o výskytu léčiv v odpadních vodách až do roku 1994, které odhalily vazbu mezi výskytem syntetického hormonu ethylen-estradiol a jeho dopadem na ryby a zahájily nový výzkum zaměřený na vznikající znečišťující látky v životním prostředí.

Dne 23. května 2001 byla ve švédském Stockholmu pod UNEPem (Programu OSN pro životní prostředí) [19] vydána mezinárodní úmluva o eliminaci nejnebezpečnějších persistentních organických látek (POPs) Dodnes úmluvy ratifikovalo 179 zemí světa včetně České republiky a Evropské unie. V České republice úmluva vstoupila v platnost dne 17. května 2004. V době svého vzniku bylo na seznamu POPs 12 látek v květnu 2009 na 4. konferenci smluvních stran Stockholmské úmluvy v Ženevě se na seznamu ocitlo dalších

9 látek a jejich metabolitů. V roce 2011 byla na seznam přidána 22. položka endosulfan. Asi nej alarmující je, jak dlouho trval počáteční výzkum výskytu cytotoxických činidel používaných k léčbě onkologických onemocnění, jejichž výskyt ve vodě se začal sledovat teprve až roku 2011 [7], přestože je prokázáno že mají ekotoxický, mutagenní účinek, a dle WHO jsou taktéž karcinogenní.

3 Legislativní rámec ochrany vodního cyklu před xenobiotiky

Základní dokumenty, které se zabývají problematikou xenobiotik v EU, jsou Rámcová směrnice o vodě³ [20], Rámcová směrnice o strategii pro mořské prostředí⁴ [21], směrnici o dusičnanech⁵ [22], směrnici o přípravcích na ochranu rostlin⁶ [23], směrnici o úpravě městských odpadních vod⁷ [24], pitné vody a Stockholmská úmluva o POPs [19].

Hlavní část strategie EU pro ochranu povrchových vod před škodlivými znečišťujícími látkami je obsažena v rámcové směrnici 2000/60, která obsahuje články 4, 10, 11 a 16 a přílohy V, VIII, IX a X týkající se chemických látek znečištění. Dne 16. prosince 2008 byly podle směrnice 2008/105 / ES zavedeny normy kvality životního prostředí (EQS) pro první 33 prioritních látek (již známých 8 látek). Z nich bylo 13 identifikováno jako prioritní nebezpečné látky (jedná se o vysoce perzistentní toxické látky s větším bioakumulačním kapacitě).

Dne 13. ledna 2010 byl přijat návrh směrnice doplňující WFD 2000/60/ES a EQSD 2008/105/ ES, přičemž do seznamu bylo zařazeno 15 prioritních látek, z nichž 6 identifikovalo prioritní nebezpečné látky. Tato směrnice rovněž zpřísnila EQS pro některé vybrané látky.

Návrh směrnice rovněž uvádí několik nových tezí v kontextu ochrany přírodního vodního prostředí:

- nastavení EQS pro biotické látky pro stávající a nově objevené prioritní látky;
- zajištění lepší a srozumitelnější kontroly látek PBT (PBT – perzistentních, bioakumulativních, toxických);
- zavedení mechanismů dohledu pro průběžný přezkum seznamu prioritních látek založených na monitorování WISE (viz níže);
- seznam prioritních látek bude revidován a aktualizován každé čtyři roky;
- látky identifikované jako prioritní nebezpečné budou zcela vyloučeny ze všech výrobních procesů v rámci EU v příštích 20 letech (od prosince 2008) a že EU usiluje o snížení, kontrolu a regulaci emisí, vypouštění a úniků prioritních látek do vody.

Z hlediska časového hlediska mohou prioritní látky ovlivňovat negativně dvě úrovně, a to jak dlouhodobě (primárně akumulací účinky, které způsobují chronické problémy), tak i na krátkodobé úrovni (akutní exacerbace). Z tohoto důvodu vytvořila EU dva typy hodnocení

³ Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES ze dne 23. října 2000, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky

⁴ Směrnice 2008/56/ES – činnost EU v oblasti mořské environmentální politiky

⁵ Směrnice Rady 91/676/EHS ze dne 12. prosince 1991 o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů

⁶ Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2009/128/ES ze dne 21. října 2009, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství za účelem dosažení udržitelného používání pesticidů

⁷ Směrnice Rady ze dne 21. května 1991 o čištění městských odpadních vod

nazývané "environmental quality standards"⁸ (EQS) pro roční průměrné koncentrace a maximální povolené koncentrace.

V souladu s požadavky rámcové směrnice o vodě a EQSD⁹ následně Komise přezkoumala seznam prioritních látek a předložila jí v roce 2012 návrh směrnice, kterou se mění rámcová směrnice o vodě a evropská kvalitativní kritéria pro životní prostředí, pokud jde o prioritní látky.

Na základě tohoto návrhu (COM (2011) 876) [25] vstoupila v platnost pozměňující směrnice 2013/39/EU obsahující revidovaný seznam prioritních látek (PP) a opatření vedoucí k legislativnímu zlepšení ochrany životního prostředí.

Hlavní změny:

- přidání 15 prioritních látek, z nichž 6 bylo označeno jako prioritní nebezpečné látky;
- schválila nové EQS, přísné parametry pro čtyři existující prioritní látky a EQS pro tři další byly mírně změněny;
- dvě prioritní látky byly označeny jako prioritní nebezpečné látky;
- posouzení norem bioty;
- provádění účinného systému monitorování a podávání zpráv o látkách, které působí jako látky PBT.

Dne 14. března 2018 byl Radou Evropské Unie předložen návrh směrnice o jakosti vody určené k lidské spotřebě (2017/0332 / COD) [26], který jak se předpokládá bude zpřísnovat limit vybraných druhů xenobiotik pro pitné vody. Evropská unie na webových stránkách veřejné knihovny WFD v CIRCAB (Platforma výměny informací¹⁰) [27] uvádí řadu zajímavých dokumentů o dopadu nebezpečných mikropolutantů do životního prostředí nebo je možné nalézt tzv. Seznam navrhovaných mikropolutantů, které budou přidány do seznamu prioritních látek. V roce 2017 převažující většinu látek na seznamu jsou léčivé přípravky.

Seznam monitorovacích látek pro rok 2017:

- | | |
|--------------------------------|--------------|
| • 17 α Ethinylestradiol | • Diklofenak |
| • 17 β estradiol | • Dicofol |
| • Aclonifen | • Dioxiny |
| • Bifenox | • HBCDD |
| • Cybutryn | • Heptachlor |
| • Cypermethrin | • PFOS |
| • Dichlorvos | • Quinoxifen |
| | • Terbutryn |

V rámci EU jsou další dokumenty týkající se ochrany vod před znečišťováním mikro znečišťujícími látkami: Směrnice o námořní strategii byla přijata 17. června 2008 Rámcovou

⁸ v českém předkladu směrnice se používá zkratka NEK – normy environmentální kvality

⁹ v českém předkladu směrnice se používá zkratka SNEK – směrnice norem environmentální kvality

¹⁰ V anglickém originálu – CIRCABC stands for "Communication and Information Resource Centre for Administrations, Businesses and Citizens the Information Exchange Platform

strategii pro mořské prostředí, jehož edukativním cílem bylo dosáhnout do roku 2020 dobrého ekologického stavu, aby se zachovala její biologickou rozmanitost mořského prostředí.

Dalším velmi zajímavým dokumentem je směrnice Rady 91/271/EHS o čištění městských odpadních vod přijatá dne 21. května 1991.

Jeho cílem je chránit životní prostředí před vypouštěním a vypouštěním některých komunálních odpadních vod z vypouštění a vypouštění z určitých průmyslových odvětví (viz příloha III směrnice) a týká likvidace, čištění a vypouštění:

- Odpadní vody z domácností,
- Směs odpadní vody,
- Kanalizace z některých průmyslových odvětví (viz příloha III směrnice).

V rámci kontroly dosažení stanovených cílů v oblasti čištění odpadních vod a nové návrhy na monitorování jsou také zveřejňovány pravidelně zprávy o stavu provádění směrnice. Devátá zpráva z roku 2017 hned od začátku varuje, že nejvíce alarmující pro stav evropských vod je cituji [28]: "Nespravovaná a nevyčištěná odpadní voda vyprodukovaná 500 miliony obyvatel EU je jedním z hlavních zdrojů znečištění, které ovlivňují kvalitu sladkovodních a mořských zdrojů vody a představují riziko pro lidské zdraví a biologickou rozmanitost."

Na základě této směrnice pak Evropská komise podpořila pilotní projekt, jehož výsledkem je informační platforma „Strukturovaný implementační a informační rámec (SIIF)“ jehož cílem je rozšiřovat data z oblasti čištění odpadních vod v rámci EU. Platforma je k dispozici online [29] a v současné době funguje jako BETA verze tedy všechna data zatím nejsou dostupná. V budoucnu se očekává, že budeme moci najít informace o jednotlivých ČOV v celé Evropě.

Rámcová směrnice o udržitelném využívání pesticidů, řeší zejména řízené používání pesticidů v Evropské unii. Pesticidy představují poměrně širokou skupinu znečišťujících xenobiotik Evropská komise prostřednictvím zavádění této směrnice omezuje šíření pesticidů a neustále kontroluje možné negativní účinky na kvalitu a výnos medu. Přehled zakázaných a povolených pesticidů naleznete v databázi pesticidů EU [30].

Stockholmská úmluva o POPs. V rámci mezinárodní spolupráce kontrolují také nebezpečné perzistentní látky UNEP (Program OSN pro životní prostředí), který v roce 2001 vytvořil takzvanou Stockholmskou dohodu, která se zavázala odstranit nejdůležitější organické látky, které jsou podléhající zkáze. Dohoda je navíc obsažena v přílohách B Restriction a C Non-Intentional Production. V současnosti je na seznamu Stockholmské smlouvy zařazeno 29 látek a úmluvu ratifikovalo 179 zemí, včetně České republiky a EU. Dne 22. března 2007 Evropská agentura pro životní prostředí ve spolupráci s Evropskou komisí (Generální Ředitelství pro životní prostředí, Společné výzkumné středisko a Eurostat) spustila systém WISE (Water Information System for Europe) [31].

Ten zaznamenává a uchovává údaje z 54 000 monitorování povrchových vod stanicích a 51 000 monitorovacích stanic podzemních vod na základě jejich chemického, fyzického a biologického stavu

V rámci evropského prostředí se xenobiologie a jejich dopadem na životní prostředí zabývá projekt FATE (FATE, Evropská komise) [32], který se uskutečňuje na Institutu pro životní prostředí a udržitelnost Společného výzkumného střediska (JRC – Joint Research Centre). Cílem projektu FATE je poskytnout podporu pro implementaci a validaci směrnic, strategií, nástrojů a mezinárodních úmluv v rámci oblasti EU, která se zabývá znečišťujícími látkami. Projekt FATE se zavázal k poskytování zásadních informací o monitorování a modelování kontaminantů v životním prostředí, příslušným institucím, jako jsou tvůrci politik a vědecká komunita. Veškeré informace jsou volně dostupné přímo na webových stránkách projektu.

Strach z nekontrolovaného šíření velkého množství látek vyráběných a dodávaných do Evropy vedl k přijetí nařízení REACH¹¹ [33]. Hlavním cílem nařízení REACH je tlak na pobočky průmyslu, aby postupně nahradily látky, které vzbuzují velmi velké obavy, ve všech výrobních procesech v rámci EU (REACH, Evropská komise). Vyhodnocením výzkumu a jeho následné implementace na mezinárodní, národní a místní úrovni bylo možné zakázat použití mnoha těchto škodlivých látek (např. DDT, různé skupiny ftalátů atd.) nebo alespoň regulovat.

4 Klasifikace, původ, zdroje xenobiologií

Xenobiologie jsou skupinou různorodých látek syntetické či přírodní povahy, jež jsou využívány napříč všemi industrializovanými odvětvími, hutnickým průmyslem počínaje a výrobou dermatologických přípravků konče. Z toho důvodu je můžeme klasifikovat z mnoha hledisek.

Pro potřeby tohoto pojednání jsou rozděleny do dvou tabulek. Tabulka č. 3 zahrnuje látky, jež jsou zapsané na seznamu prioritních substancí směrnice 2008/05/ES, na seznamu Stockholmské dohody, nebo je jako potenciální hrozbu pro životní prostředí označují neziskové organizace zabývající se ochranou životního prostředí, Společnost pro endokrinologii nebo Ministerstvo životního prostředí v ČR.

Tabulka č. 4 popisuje farmaka, u nichž se zatím nepodařilo dostatečně prokázat jejich negativní vliv na přirozené vodní prostředí na základě nedostatečného množství podložených výzkumů [34].

Hlavním zdrojem xenobiologií pro povrchové vody jsou nečištěné odpadní vody (odlehčovací komory jednotné kanalizace, výusti dešťové kanalizace zaústěné přímo do recipientu, nelegální vypouštění splaškových vod do recipientů apod.), jako další zdroje bývají označovány výusti ČOV, špatně zabezpečené skládky, spalovny odpadů, úniky z výroben a splachy ze zemědělsky obhospodařovaných půd. Ve vodách povrchových se však kromě xenobiologií antropogenního původu mohou vyskytovat i neantropogenní substance jako jsou fytoestrogeny, ty se mohou do vod dostávat tak, že jsou konzumovány dobyt看 [35] (případ červeného jetele) a následně vylučovány do půdního horizontu a skrze něj se mohou dostávat až do povrchových vod. Obsahově jsou samozřejmě splaškové vody bohatší na výskyt xenobiologií, nicméně v dešťových vodách se tyto látky vyskytují také, a to

¹¹ Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 ze dne 18. prosince 2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (REACH) a o zřízení Evropské agentury pro chemické látky, o změně směrnice 1999/45 / 793/93 a nařízení Komise (ES) č. 1488/94 a směrnice Rady 76/769 / EHS a směrnice Komise 91/155 / EHS, 93/67 / EHS, 93/105 / 2000/21 / ES

převážně kovy, anorganické stopové prvky, PAU, pesticidy, alkyfenoly a jejich etoxyláty, dioxiny, furany, PCB, a další.

Do dešťových vod se dostávají skrze stavební materiály a stavební konstrukce, doprava (dopravní prostředky, pneumatiky brzdy, laky a nátěry na vozovce, a nemrznoucí směsi, obhospodařování půd (pesticidy, herbicidy atd.), z lidské aktivity (mytí auto, vylévání barev olejů a do dešťové kanalizace) a také mokré a suché vzdušné depozice. V roce 2002, Ledin a jeho spolupracovníci odhalily, že se v městských dešťových vodách se vyskytuje, 27 kovů a anorganických stopových prvků a 352 XOC's (Tabulka č. 1) a v roce 2007, pak Eriksson a kol pozorovaly přinejmenším 78 kovů a anorganických stopových prvků a 385 XOC's [36].

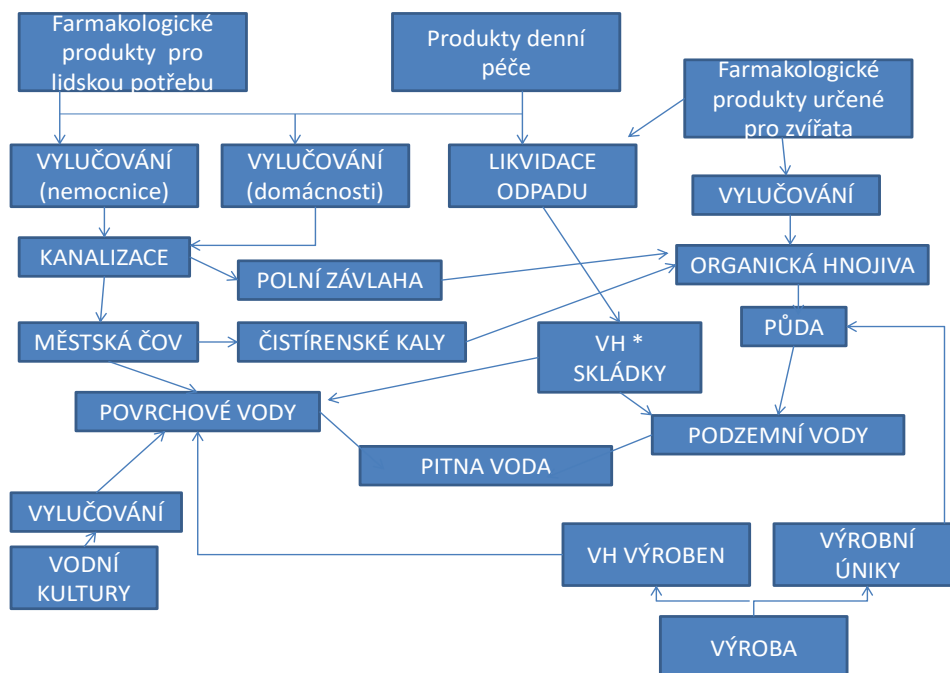
Tabulka 1 - Počet látek identifikovaných ve vzorku městských dešťových vod [36]

Skupiny látek	Počet identifikovaných látek
Kovy a anorganické stopové prvky	27
Xenobiotické organické sloučeniny	
Alifatické aminy	0
Alkany	18
Aromatické uhlovodíky	7
Chlorfenoly	0
Dioxiny a furany	34
Ethery	8
Halogenové alifatické uhlovodíky	27
Halogenové aromatické uhlovodíky	12
Organické sloučeniny olova	9
Organické sloučeniny cínu	0
PCBs	14
Pesticidy	118
Fenoly	27
Ftaláty	8
PAU	45
P-triestery	3
Ostatní	25
Celkem	352

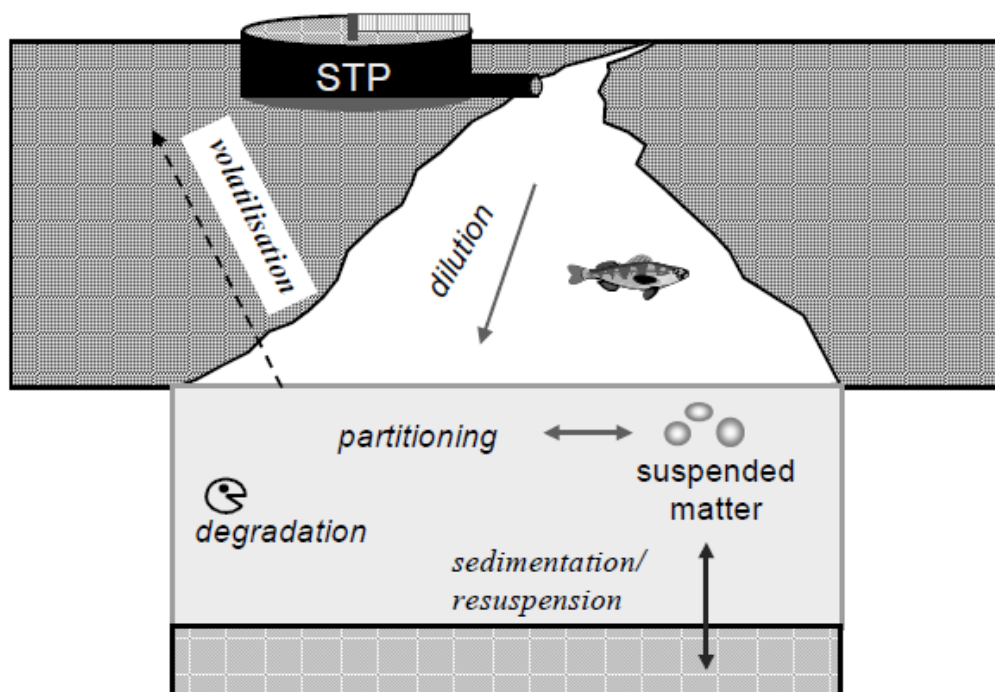
Dešťové vody jsou často v rámci úspor tzv. znovu vyžívány jako levnější varianta proti pitné vodě, např. pro splachování toalet, závlahy praní čištění apod., což sebou nese opět možná rizika expozice těchto látek na člověka a organismy (Tabulka č. 2). Xenobiotika pocházejí buď z bodových zdrojů, jako je tomu v případě kovů či látek obsažených v silničních posypových směsích, ale mohou se vyluhovat i ze zdrojů plošných jako což případ např. pesticidů. Z kovů jsou nejčastěji se vyskytující Cd, Cr, Cu, Pb a Zn, organických xenobiotik jsou to pak nejčastěji PAU a pesticidy. Xenobiotika vyskytující se v průmyslových vodách můžeme rozdělit jednak z hlediska užití v dané branži (petrochemický, oděvní, strojírenský atd.) a jednak z hlediska funkce ve výrobním procesu, kdy může látka figurovat konečný výrobní produkt, nezamýšlený vedlejší produkt, meziprodukt anebo jako aditivum zlepšující vlastnosti finálních výrobků. Pro komplexní hodnocení zdrojů, odkud xenobiotika pronikají do vodního ekosystému, nejlépe poslouží schéma dle Heberer, 2002 [37]. Sumarizace xenobiotik vyskytujících se ve vodním cyklu tabulkách 3 a 4, přičemž tabulka 4 je věnována pouze léčivům.

Tabulka 2 Identifikace rizik spojených s využitím dešťových vod [35]

Využití	Expozice	Potenciální riziko	Typ rizika
Splachování toalety	Inhalace aerosolů	Alergie	Zdraví
		Infekce	
	Kontakt s pokožkou	Alergie	Zdraví
		Infekce	
	Jiné	Zabarvení	Estetické
		Pěnění	Estetické
		Zápach	Estetické
		srážení	Technické
Praní	Kontakt s pokožkou	Infekce	Zdraví
		Alergie	
		Rakovina	
		Mutagenní změny	
		Reprotoxita	
	Jiné	Zabarvení oděvů	Estetické
		Koroze	Technické
		Zápach	Estetické
		Srážení	Technické
Úklid	Inhalace aerosolů	Alergie	Zdraví
		Infekce	
	Kontakt s pokožkou	Infekce	Zdraví
		Alergie	
		Rakovina	
		Mutageneze	
		Reprotoxita	
	Jiné	Koroze	Technické
		Zápach	Estetické
		Srážení	Technické
Lokální čištění vod	Biofiltr	Toxicita	Technické
Irigace – lokální infiltrace	Půda a půdní organismy	Akumulace	Environmentální
		Změny vlastností půd (pH, zasolení atd.)	
		Toxicita	
	Podzemní voda	Změny vlastnosti vody	Environmentální
		Mobilizace v rámci podzemní vody	



Obrázek 1 Cesty úniků xenobiotik do vodního prostředí [37]



Obrázek 2 - Transformační procesy v rámci vodního cyklu – STP – Sewage treatment plant, dilution – rozředění, suspended matter – suspendované látky, volatilisation – volatilizace, degradation – degradace, partitioning – dělení, sedimentation/resuspension – sedimentace/resuspendace [38]

Tabulka 3 – „Prokázaná xenobiotika“ [164; 165; 166; 1; 167]

NÁZEV SUBSTANCE/ SKUPINY SUBSTANCÍ	CHARAKTERISTIKA	UŽITÍ	ÚČINKY	MÍSTA VSTUPU DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ
ALKYFENOLY (AP)	nehalogenované organické sloučeniny vyráběné jako surovina pro výrobu nelontových detergentů – alkyfenol etoxylátů (APE). Nejšířší využití – etoxyláty nonylfenolu (NPE) a oktylfenolu (OPE).	průmyslové detergenty, emulgátory, pro povrchovou úpravu textilií a kůže, jako přísada pesticidů a dalších agroproduktů, barviv na bázi vody, šampónů a výrobků osobní hygieny aj. Deriváty nonylfenolu (NP) se používají též jako antioxidanty v některých plastech.	schopnost napodobovat účinky přirozených estrogenů. Zdravotní rizika spojené s působením AP na člověka nejsou dostatečně prozkoumány. další negativní vlastnosti: poškození DNA v lidských lymfocytech, schopnost bioakumulace, toxické pro vodní organismy	ČOV, během čištění etoxyláty alkyfenolu degradují na alkyfenoly, jež jsou mnohem lipofilnější a toxičtější látky než jejich mateřské substance
FENOLY	sloučeniny, které obsahují – OH skupinu vázanou na aromatické jádro, vytvářejí oxoniové soli, estery a fenoláty. Fenoly mají jednu hydroxylovou skupinu jsou prakticky neoxidovatelné. Vznikají chinony což jsou hydroxyderiváty toluenu mají dezinfekční účinky – např. Resorcin, dále např. aspirin je odvozen od přírodního rostlinného fenolu, kyseliny salicylové. Fenoly také využívají rostliny pro produkci ligninu, hlavního přírodního polymeru ve dřevě. Nicméně chlorované fenoly jsou výlučně produkovány synteticky	výroba plastů, k ničení bakterií a řas ve vodních kalech, k dezinfekci, k výrobě některých léků (proti bolesti v krku, kožní onemocnění), hlavní chemický mezi produkt pro výrobu fenolových pryskyřic a chemických vláken, slinividy v průmyslových vodních systémech, Chlorfenoly - ochrana dřeva, desinfekční a antiseptické prostředky, aditivum do pesticidů.	ostatní negativní vlastnosti – nadměrné působení fenolu může způsobit poškození mozku, zažívacího traktu, očí, srdce, ledvin, jater, plic, periferních nervů, pokožky a nenarozených dětí.	ČOV, splachy z půd a povrchů materiálů
FTALÁTY	estery kyseliny ftalové, jsou skupinou asi 40 ti chemických látek nejpoužívanější : di(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP) di-isononyl ftalát (DINP) dibutyl ftalát (DBP)	změkčovadla PVC, kosmetika, jako insekticidy či adheziva, v barvách, di(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP) se nejčastěji používá jako změkčovadlo ve výrobcích z PVC, v podlahovinách, stavebních materiálech, interiérech domácností, potrubičních rozvodech	DEHP je podle studií prováděných na zvířatech znám jako jedovatá látka ohrožující schopnost reprodukce (poškození samčího i samičího rozmnožovacího ústrojí), způsobující vrozené vady (např. kosterní vady, oční vady, vady nervového seskupení tvořícího základ nervové soustavy staršího embrya), kardiovaskulární problémy a neplodnost. DEHP rovněž poškozuje ledviny a játra, kde se hromadí.	ČOV či emisí z továren, kde se vyrábí. Také se uvolňuje se z materiálu během jeho používání či likvidace.

Tabulka 3 – „Prokázaná xenobiotika“ –pokračování

NÁZEV SUBSTANCE/ SKUPINY SUBSTANCÍ	CHARAKTERISTIKA	UŽITÍ	ÚČINKY	MÍSTA VSTUPU DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ
HEXACHLOROBUTADIEN	Hexachlorbutadien je bezbarvá tekutina s terpenytným zápachem. Nazývá se také perchlorbutadien. Nevzniká v přírodě přirozenou cestou, pokud je přítomen v životním prostředí, jeho původcem je člověk. Hexachlorbutadien vzniká jako vedlejší produkt (odpad) při výrobě perchloretylenu a tetrachlorometanu perchlorací (u nás ve Spolchemii v Ústí nad Labem).	V zahraničí se používá k výrobě chloroprenového kaučuku jako rozpouštědlo (u nás byla tato výroba ukončena), k výrobě lubrikantů v setrvačnicích, jako teplotnosná a hydraulická kapalina (nahradil PCB), u nás vzniká při výrobě perchloretylenu a tetrachlorometanu perchlorací (Spolchemii v Ústí nad Labem).	Neexistují žádné studie, které by prokazovaly účinky na lidi. Většina jeho dopadů na lidské zdraví je tak založena na studiích provedených na zvířatech. Studie myši prokázaly podráždění horních cest dýchacích po vdechnutí vysokých koncentrací během krátké doby. Další efekt provázející expozici HCBd dýcháním prokázaný na zvířatech bylo snížení váhy plodu u matek, které vdechovaly vysoké koncentrace látky. Hexachlorbutadien je prokázaným nefrotoxinem (poškozuje ledviny a játra). Ukázaly to studie krys, kterým byly podávány nízké dávky látky ve vodě. Nebyly prokázány vlivy na reprodukční systém. Poškození ledvin a jater prokázaly také studie králíků, kteří přišli do kontaktu s chemikálií kůží po krátkou dobu	Zdrojem emisí do vod výroby EDC (etylendichloridu)/VCM (vinylchloridu) u nás je zdrojem emisí do vod je Spolchemie Ústí nad Labem a Spolana Neratovice
CHLORALKANY	Chlorované parafíny s krátkým řetězcem neboli chlorované alkyany C ₁₀₋₁₃ mají obecný vzorec C _x H _(2x+y+2) Cl _y , kde x = 10 až 13 a y = 1 až x. Vznikají chlorací n-alkanů za vysokých teplot a přítomnosti UV záření.	náhrada za PCB, plastifikátory, lubrikanty, zpomalovače hoření (flame retardants), jako aditiva při výrobě barviv, tmelu, adhesiv aj	Schopnost bioakumulace, dermatitida a respirační onemocnění. Směs chlorovaných parafínů C12 s 60% obsahem chlóru je IARC hodnocena jako možný karcinogen pro lidi, vysoce toxické pro vodní organismy, mohou vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí. Toxicita na vodní organismy byla prokázána v rozmezí koncentrací 0,12 – 1,45 ug.l-1 (zdroj: MŽP ČR 2004).	České republice vyráběny nejsou. Předpokládá se, že se dovážejí ze sousedního Slovenska, kde je vyrábějí Novácké chemické závody, a. s. Nováky. Hlavní zdroje úniků: výrobní obuví, průmysl nátěrových hmot, zbytky nátěrových hmot z výroby jsou likvidovány spalováním ve spalovnách, mohou z nátěrů vyluhovat do vody (nátěry bazénů, jímk, požárních nádrží atd.)

Tabulka 3 – „Prokázaná xenobiotika“ - pokračování

NÁZEV SUBSTANCE/ SKUPINY SUBSTANCÍ	CHARAKTERISTIKA	UŽITÍ	ÚČINKY	MÍSTA VSTUPU DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ
TRICLOSAN	Triclosan je chlorfenol (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxyphenyl ether)	kosmetických přípravků také jako konzervační prostředek, biocidního přípravku, čistících prostředků, mýdlech, deodorantech, krémech, zubních pastách, nebo také jako příměsí plastů a textilií.	Triclosan se váže na specifický receptor bakterie inhibuje biosyntézu mikrobiálních kyselin stejně jako antibiotika, takže může navodit zkrácenou odolnost vůči nim. Navíc triclosan je u E coli vypuzujícího z jejích buněk různé látky tím pádem se triclosan se může podílet na vzniku zkrácené resistance vůči klinicky důležitým antibiotikům.	farmakologická látka nejčastěji se vyskytující ve vzorcích vod, objeven byl i v mateřském mléce. O koncentracích triclosanu v životním prostředí ČR chybí údaje, jde o látku široce kontaminující životní prostředí. hlavní zdroje: ČOV
OKTACHLORSTYREN	Většina zdrojů uvádí, že oktachlorstyren (OCS), nebo také pentachlor(trichlorethylen)benzen, nebyl nikdy vyráběn pro komerční účely. Společně s níže chlorovanými styreny (s nižším počtem atomů chloru) vzniká jako nezamýšlený vedlejší produkt vysokoteplotních chemických procesů chlorové chemie	vzniká jako vedlejší produkt vysokoteplotních chemických procesů chlorové chemie nebo také spalováním chlorovaných odpadů. v ČR řazen do skupiny chlorovaných pesticidů (různé zdroje uvádějí, že nebyl nikdy užíván pro komerční účely nicméně ČHMÚ jej uvádí jako pesticid)	Vliv oktachlorstyrenu na lidské zdraví zatím není dostatečně prozkoumán.	Na základě jeho vlastností pak můžeme usuzovat, že se nejvíce bude kumulovat hlavně ve vodních sedimentech a ve vodních organismech, především v rybách Hlavní zdroji: odpadní vody z výroby chloru, hořčíku, niobu, tantalu a rovněž z tavíren hliníku, průsaky ze skládek nebezpečných odpadů, výluhy z popílků ze spaloven odpadů.
PENTACHLORBENZEN	Látka s plným chemickým názvem 1,2,3,4,5-pentachlorbenzen. Je to uměle vyráběná bílá nebo průhledná krystalická látka se specifickým zápachem.	výroba pentachlornitrobenzenu (quintozenu)zpomalovač hoření, meziprodukt či nezamýšlený vedlejší produkt při výrobě chlorovaných alifatických uhlovodíků (tetrachlorethylenu), meziprodukt přirozené degradace lindanu a hexachlorbenzenu.	Dlouhodobá expozice může ovlivňovat játra, ledviny a způsobovat vznik lézí. Studie provedené na zvířatech ukazují, že pentachlorbenzen může negativně působit na reprodukci, a proto je řazen k reprotoxickým látkám.	pentachlornitrobenzenu (quintozenu), při jehož používání se uvolňuje do prostředí

Tabulka 3 – „Prokázaná xenobiotika” –pokračování

NÁZEV SUBSTANCE/ SKUPINY SUBSTANCÍ	CHARAKTERISTIKA	UŽITÍ	ÚČINKY	MÍSTA VSTUPU DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ
PESTICIDY	DDT, Aldrin, Endrin, Toxafen, Alachlor, Atrazin, Mirex, HCB a mnohé další	Pesticidy jsou širokou skupinou přípravků užívaných k ochraně produktů z různých odvětví (převážně zemědělství) před škůdci nebo přímo k jejich hubení. Podle účinku na jednotlivé škůdce je může rozdělit do různých skupin například na herbicidy, insekticidy, fungicidy a mnohé další.	V současné době je pesticidům přisuzováno kromě schopnosti endokrinní disrupce další velké množství negativních účinků jako je hnutí včel, kontaminace povrchových vod, Parkinsonova choroba, poškozování mozku a další. Mnohé z pesticidů v současné době nachází na seznamu Stockholmské dohody (viz. historie Xenobiotika)	ČOV, kaly z čištění odpadních vod, splachy zemědělských likvidace odpadů, kompostárny
POLYBROMOVÉ DIFENYLETHERY	Polybromované difenylethery jsou látky aromatického charakteru. Jedná se o skupinu 209 chemických látek příbuzných vlastností nejčastěji používané technické směsi jsou PBDE řazených do skupiny aditivních BFR dále PentaBDE, OktaBDE a DeKaBDE, které jsou označované podle nejhojnější zastoupených kogenérů.	slouží jako pesticidy, zpomalovače hoření. PBDE nalezly uplatnění například při výrobě elektroniky, automobilů, letadel, v textilním průmyslu, nebo stavebnictví	imunitní reakce organismu, reprodukčního cyklu a působení na vývoj další generace, negativně ovlivňují hormonální rovnováhu organismu	Odpadní vody, sedimenty, čistírenské kaly skládky apod.
POLYCHLOROVANÉ DIBENZOTHIOFENY	Polychlorované dibenzothiopheny (PCDT) jsou sirnatou obdobou polychlorovaných dibenzofuranů (PCDF), síra se váže mezi dvěma benzenovými jádry místo kyslíku	vedlejšími produkty v chemických procesech a při spalování	Předpokládá se, že díky své podobnosti s dioxiny působí negativně především na hormonální a imunitní systém člověka.	zjištěny v plynných emisích a popílku ze spaloven odpadů, odpadních vod z papíren, v sedimentech a některých vodních organismech.
POLYCHLOROVANÉ BIFENYLY	Jsou to velice stabilní chlororganické látky téměř nerozpustné ve vodě	Používaly se do transformátorových a kondenzátorových olejů, do barev, plastifikátorů, propisovací papíry, do inkoustů, rtěnek, také vznikají podobně jako dioxiny jako nezámyslené vedlejší produkty v řadě průmyslových výrob (hutnictví, při spalování odpadů, výrobě různých sloučenin chlóru anebo ve spalovacích motorech automobilů při spalování olovnatého benzínu atd.).	PCB vyvolávají onemocnění jater, poruchy krevního oběhu, únavu, prodlužují těhotenství a způsobují reprodukční problémy. Ryby žijící po delší dobu ve vodě kontaminované stopovými koncentracemi PCB v sobě tyto látky zkoncentrovaly až tisíckrát. Distribuce PCB v tělech ryb přitom není rovnoměrná	ČOV, kaly, říčních sedimenty
STYREN	Styren je ve své čisté podobě bezbarvá olejovitá tekutina, která se rychle odpařuje a je pro ni typický nasládlý pach	užívá se jako monomeru – pro výrobu např. pryží, umělé hmoty, izolace, sklolaminát, potrubí, automobilové součásti, obaly na potraviny, koberce, při výrobě polystyrenu	je prokázáno, že některé styrenové látky uvolňující se z umělohmotných obalů na potraviny lze zařadit k estrogenním látkám. Má vazebné afinity k lidským estrogenním receptorům.	odpadní vody z chemických procesů, uvolňování z výrobků

Tabulka 3 – „Prokázaná xenobiotika“ -pokračování

NÁZEV SUBSTANCE/ SKUPINY SUBSTANCÍ	CHARAKTERISTIKA	UŽITÍ	ÚČINKY	MÍSTA VSTUPU DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ
POLYCYKLIČKÉ AROMATICKÉ UHLOVODÍKY	Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) je skupina látek, do které patří více než 100 sloučenin. Jsou tvořené uhlíkem a vodíkem, dvěma a více benzenovými jádry naftalenu,	ze spalování fosilních paliv (při nedokonalém spalovacím procesu), ze spalování odpadů, ze silniční dopravy, při krakování ropy, při výrobě hliníku, z metalurgických procesů, při výrobě koksu, asfaltu, při výrobě cementu, z rafinerií, krematorií, z požárů.	Studie na zvířatech prokázaly vliv na snížení plodnosti a vývojové vady potomků.	ČOV kalu a ukládají se v sedimentech, jakékoliv nedokonalé spalování
OLOVO	Olovo je nejrozšířenější ze skupiny těžkých kovů. Je to šedomodrý, měkký, tažný a dobře tvarovatelný kov. V ryzí formě se v přírodě vyskytuje vzácně, většinou ve vázané formě ve sloučeninách – anglesitu, cerusitu a galenit.	výrobě akumulátorů, aditivum do skla, různých slitin a pájek, antikorozních nátěrů. Organické sloučeniny Pb – tetraethylovo-aditivum do autobenzínů (zavedením bezolovnatých paliv jeho spotřeba výrazně klesla (emise olova v roce 1995 činily 195 tun, v roce 2003 to bylo jen 5,5 tuny)	Olovo může ovlivňovat krevní a nervový systém, ledviny, imunitní mechanismy, trávicí a reprodukční systém.	ČOV, zemědělská hnojiva, která obsahují odpadní kaly. Mezi silně znečištěné řeky olovem patří např. Berounka a Sázava.
TRIBUTYLČÍN	Tributylčíničitě sloučeniny patří mezi organické sloučeniny cínu (OTC)	Aditivum v nátěrech lodí, v papírnách a následně i výrobcích z papíru včetně jednořázkových plen a vložek, v chladicích zařízeních a věžích, aditivum do přípravků na ochranu dřeva, do molusců, rodenticidů	Tributylčín totiž blokuje konverzi testosteronu v estrogenu. CIT-Rizika pesticidů Samice pak díky nadměrné produkci testosteronu vykazuje některé samčí charakteristiky (vyvíjí se penis). V extrémních případech to vede k neplodnosti.	ČOV, úniky z výroben, uvolňování z produktů
EPICHLORHYDRIN	Epichlorhydrin (dle systematického názvosloví 1-chlor-2,3-epoxypropan) hořlavina 2. třídy, čirá, téměř bezbarvá kapalina charakteristického zápachu s bodem varu 116 °C	výroba epoxidových pryskyřic	Snadno proniká buněčnými membránami, prokázán jako karcinogen	Epichlorhydrin se do životního prostředí uvolňuje z výroby, použití, skladování, při přepravě i při likvidaci materiálů,
ZEARALENONY	laktony kyseliny β-resorcylové, mykotoxiny produkované plísními rodu Fusarium, především Fusarium graminearum.	plísňe napadají obiloviny, jako je kukuřice, ječmen, oves,	výraznou estrogenní aktivitu	ČOV
BUTYLOVANÝ HYDROXYANIZOL	antioxidant, skládající se ze směsi dvou izomerních organických sloučenin, 2 - terc-butyl-4-hydroxyanisol a 3 - terc-butyl-4-hydroxyanisol. Je připravený z 4-methoxyfenol a izobutylem	konzervační prostředky v potravinách, balení potravin, krmiva, kosmetika, gumy a ropné produkty. [3] BHA je také běžně používaný v lékařství, jako je isotretinoin a lovastatinu a simvastatinu, mimo jiné.	Reaguje s estrogenním receptorem pstruha duhového i člověka.	ČOV

Tabulka 3 – „Prokázaná xenobiotika“-pokračování

NÁZEV SUBSTANCE/ SKUPINY SUBSTANCÍ	CHARAKTERISTIKA	UŽITÍ	ÚČINKY	MÍSTO VSTUPU DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ
PARABENY	vyráběny esterifikací kyseliny para-hydroxybenzoové s příslušným alkoholem para-hydroxybenzoová kyselina je pak vyráběna průmyslově z modifikace Kolbe-Schmittovy reakce, pomocí draslíku a oxid uhlíčitý, existuje i několik přírodních parabenů např. Methylparaben se nachází v borůvkách,	KONZERVANTY, v šamponech, komerčních zvlhčovačích a holící gely a osobních maziv a lokální / parenterální léky, spreje opalování roztoku, make-up, zubní pasty	napodobují estrogeny (prokázáno)	ČOV, výluhy z produktů
BISFENOL A	bezbarvá pevná látka, která je rozpustná v organických rozpouštědlech, ale špatně rozpustná ve vodě	výroba epoxidových pryskyřic, aditivum v plastech, obalech potravin a nápojů (kojenecké lahve zakázáno), domácí elektronika, brýle, čocky a mnoho dalších	Dokázán estrogenní účinek u krys a hormonální efekty, které zvyšují riziko rakoviny prsu u lidí. Popsána schopnost působit anti-androgenně, což u mužů způsobuje zženštilost.	ČOV
DIOXINY	polychlorované dibenzo-p-dioxiny (PCDD) a polychlorované dibenzofurany (PCDF), nejsou rozpustné ve vodě nicméně v roztocích, a tudíž se nevyskytují ve vodních tocích volně, ale váží se do tukových tkání živočichů nebo do sedimentů	při spalování odpadu obsahujícího chlorované látky či jako vedlejší produkty v chemické výrobě, kde se používá chlór (při výrobě pesticidů, bělení papíru chlórem apod.)	způsobují hormonální poruchy, ohrožují reprodukci živočichů včetně člověka, mají na svědomí poškození imunitního systému a některé z nich způsobují rakovinu, vysoce chemicky stabilní	Hlavními zdroji úniků dioxinů jsou dnes spalovací procesy, ve kterých figurují chlorované látky (spalování odpadů, metalurgie atd.).
VÚNĚ	<ul style="list-style-type: none"> 5-tert-butyl-2,4,6-trinitro-meta-xylene (musk xylol) 1-(4-tert-butyl-2,6-dimethyl-3,5-dinitrophenyl) ethanone (musk ketone) 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta-gamma-2-benzopyran (galaxolide) 1-(5,6,7,8-tetrahydro-3,5,5,6,8,8-hexamethyl-2-naphthalenyl)ethanone (tonalide) (6-tert-butyl-1,1-dimethylindan-4-yl)methylketon (celestolide) 	parfémy, kolínské a toaletní vody, v kosmetických výrobcích, mýdlech, v pracích a čistících prostředcích	Prokázáno ovlivňování hormonálních systémů	ČOV

Tabulka 3 – „Prokázaná xenobiotika“-pokračování

NÁZEV SUBSTANCE/ SKUPINY SUBSTANCÍ	CHARAKTERISTIKA	UŽITÍ	ÚČINKY	MÍSTA VSTUPU DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ
ADITIVA OCHRANNÝCH UV PROSTŘEDKŮ	<ul style="list-style-type: none"> • Benzofenon-3-OXYBENZON – bezbarvé krystaly, jež se snadno rozpouštějí ve většině organických rozpouštědel. Oxybenzon je derivát benzofenonu, která může zaútočit na DNA • Homosalate ester tvořený z kyseliny salicylové a 3,3,5-trimethylcyclohexanol, derivát cyklohexanolu 	ochranné krémy před UV zářením	Prokázaná interakce s estrogenním, androgenní a progesteronovým receptorem	ČOV

Tabulka 4 – Steroidní farmaka [34; 84]

NÁZEV SKUPINY		LÉČIVA	INDIKACE	MÍSTA VSTUPU DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ	ÚČINKY
ESTROGENY	A	<ul style="list-style-type: none"> • 17β – estradiol (E2) - pohlavní hormon • Estriol - (E3) je ve velkém množství produkován během těhotenství • 17α-ethinylestadiol také ethinylestadiol (EE), je derivát z estradiolu-První perorálně účinný semisyntetický steroidní estrogen 	17 β - estradiol (E2) - složka léků užívaných při menopauze Estriol - (E3)- krémy užívané v menopauze, léčba roztroušené sklerózy 17 α -ethinylestadiol - antikoncepce	z vylučování lidského těla	Estradiol je nejsilnější estrogen. EE aktivuje estrogení receptor (estrogeně aktivní)
		<ul style="list-style-type: none"> • Norethindron/Norethisteron – syntetický progestin. • Progesteron také známý jako P4 p regn-4-en-3 ,20-dion)) je C-21 steroidní hormon, vzniká v lidském těle, může být také syntetizován kvasinek 	Norethisteron (nebo 19-ani-17 α -ethinyltestosterone) kombinované perorální antikoncepce, léčbě premenstruační syndrom, bolestivé menstruace, při menopauze nebo o odložení při oddalování menopauzy, k prevenci děložní krvácení, prevenci předčasněho porodu u Progesteron je použit na podporu těhotenství v asistované reprodukci (ART) cykly,	z vylučování lidského těla	jedná se o látky, které předešlým v kombinaci s estrogenem jsou estrogeně aktivní
ANTIESTROGENY		Tamoxifen	hormonální léčba při karcinomu prsu	z vylučování lidského těla	brání estrogenu vázat se na jeho receptor
ANDROGENY GLUKOKORTIKOIDY	A	<ul style="list-style-type: none"> • Testosteron je steroidní hormon z androgenů skupiny a nachází se u savců, plazů, [1] ptáků, [2] a dalších obratlovců • Beklometason – syntetický Je bílý až krémově bílý prášek bez zápachu, která je velmi málo rozpustný ve vodě. • Hydrokortison je steroidní hormon, konkrétně glukokortikoidy 	<ul style="list-style-type: none"> • Testosteron – anabolické steroidy, stimulace růstu, • Beklometason – složka různých léčiv např. léčba astmatu., kožních ekzémů • Hydrokortison – léčba alergických reakcí, lupénka, ekzémy 		
FYTOESTROGENY		Fytoestrogeny jsou látky rostlinného původu s estrogením účinkem	zmírnění příznaků menopauzy, bolest při menstruaci		vykazují estrogení aktivitu
VETERINÁRNÍ RŮSTOVÉ HORMONY		hovězí a prasečí růstové hormony (somatotropiny)	ukončení březosti krav a k podpoře jejich růstu	vylučování zemědělskými zvířaty	

STEROIDNÍ FARMAKA

Tabulka 4 – Nesteroidní farmaka pokračování

NÁZEV SKUPINY		LÉČIVA	INDIKACE	VSTUP DO VODNÍHO PROSTŘEDÍ	ÚČINKY
Látky pro léčbu krve a krevetvorných orgánů		<ul style="list-style-type: none"> Kyselina acetylsalicylová – aromatická karboxylová kyselina, derivát kyseliny salicylové. Za normální teploty je to bílá krystalická látka, mírně rozpustná ve vodě Pentoxifylin 	<ul style="list-style-type: none"> Kyselina acetylsalicylová – snižování srážlivosti krve Pentoxifylin zlepšuje průtok krve periferních cév, 		<ul style="list-style-type: none"> Pentoxifylin je také antagonistou acetylsalicylové při dlouhodobém užívání zvyšuje aktivitu jaterních enzymů
	Látky pro léčbu srdce a oběhové soustavy	Kyselina klobifrová	Snižování cholesterolu v krvi		
Antibiotika	<ul style="list-style-type: none"> Penicilin Amoxicilin Tetracykliny 	<ul style="list-style-type: none"> léčbě infekčních stavů, 			
Analgetika:	Paracetamol, kyselina acetylsalicylová, diklofenak, kodein, ibuprofen, atd	skupina léčiv sloužících pro tlumení bolesti			
Antidepresiva	<ul style="list-style-type: none"> Fluoxetin Citalopram 				
Látky pro léčbu alergií a astmatu:	Budenosid				
X-ray media	<ol style="list-style-type: none"> 1. Iopromide 2. Iopamidol 3. Iohexol 4. Diatrizoate 	magnetická rezonance, radiologie, při operačních zákrocích	nemocniční odpadní vody	silně perzistentní,	
Cytostatika	ifosfamide, cyclophosphamide	léčba nádorových onemocnění		nemocniční odpadní vody	Vykazují karcinogenitu, mutagenitu nebo embryotoxické parametry
Antiepileptika	<ol style="list-style-type: none"> 1. Primidone 2. Karbamazepin 	léčba epilepsie		vylučovány zemědělským zvířaty	silně perzistentní,
Beta blokátory	<ol style="list-style-type: none"> 1. Metoprolol 2. Propanolol 3. Betaxolol 4. Bisoprolol 5. Nadolol 	Beta-blokátory zaměřit na beta receptor. Beta receptory se nacházejí na buňkách srdečního svalu, hladké svaly, dýchací cesty, cévy, ledviny, a dalších tkání, které jsou součástí sympatického nervového systému a vést ke stresu odpovědi, zvláště když jsou stimulovány epinefrin (adrenalin). Beta-blokátory v rozporu s vazbou na receptor adrenalinu a dalších stresových hormonů, a oslabit účinek stresových hormonů. Léčba kardiovaskulárního systému, pro léčbu úzkostných poruch a migrén			silně perzistentní,

NESTEROIDNÍ FARMAKA

4.1 Popis a původ vybraných skupin léčiv

4.1.1 Analgetika

Hledání prostředků pro tlášení bolestí provází lidskou společnost, již od dob neolitu. Mezi první užívaná analgetika patří rostlinné výtažky a odvary z různých bylin jako mák, kozlík, chmel, mandragora hojně bylo využívání také tlumivého účinku alkoholu. Největšího ohlasu pak mezi nimi dosáhla usušená šťáva z nezralých makovic známa pod názvem opium. Tato látka se pak nadlouho dobu stala nejhojněji užívaným lékem na tlumené bolesti a provázela medicínu přes starověk středověk až do 19 století, kdy její užívání v rámci západní společnosti přesáhlo únosnou mez a jak uvádí profesor Karel Nešmerák ve svém pojednání o historii analgetik „spotřeba opia v té době přesáhla 5 gramů na osobu ročně“. Užívání opia stálo za zrodem společenské drogové závislosti v Číně, kam Anglie v 19 století opium hojně importovala dosáhlo množství závislých na opiu neuvěřitelného čísla 20 miliónu tento stav vyústil až k historickým událostem známým jako opiové války vedoucí k odtržení například Hongkongu od zbytku Číny (Wong, 1998). Naprostým paradoxem je, že následující vývoj opiátových analgetik vedených za účelem vyvinout analgetikum nezpůsobující závislost vedl nejprve k objevu alkaloidu zvaného Morfin, jež objevil lékárník Friedrich Wilhelm Adam Sertürner. Užívání morfia pak začalo mít podobně kontroverzní průběh jako užívání opia co se týče závislosti pacientů tak snad ještě horší. Acetylaci morfinu získal roku 1874 anglický chemik Charles R. Alder Wright (1844–1894) derivát jménem Heroin, jež pak byl s velkou pompou vydáván jako léčebný přípravek pro závislé na morfium teprve v roce 1912 bylo užívání a vyrábění Heroinu ve většině zemí zakázané. Naštěstí v době, kdy byl syntetizován Heroin v laboratořích známé farmaceutické firmy Bayer se ve stejné laboratoři stejným pracovníkem podařilo syntéza acetylsalicylové kyseliny známé také pod komerčním názvem Aspirin.

Syntetizace některých analogů této kyseliny vedla k objevům dalších léčiv jako diklofenak či diflunisal.

Co se týče paracetamolu jeho objev byl znám od roku 1878 ovšem na základě testů se znečištěným preparátem byl považován za škodlivý a neúčinný teprve v roce 1946 byl na základě nových testů tento závěr přehodnocen a bylo navíc zjištěno, že paracetamol je hlavní metabolitem fenacetinu do té doby nejhojněji užívaným antipyretikem a analgetikem při horečkových stavech (Brune K, 2007). Vývoj analgetik v rámci lidské společnosti je velice zajímavé téma proto bych i zde ráda znovu odkázala na výborný článek profesora Karel Nešmerák z Univerzity Karlovy „Historie analgetik“

Skupina léků proti bolesti (bezbolestná, algie – bolest). V současné době může být použito orálně nebo lokálně jako gely a masti nebo ve formě pro injekce. Méně účinná analgetika ve většině zemí nejsou normativní, tj. Volně prodejné. Ve velkém množství se spotřebovává, například pouze v České republice v roce 2017 byla kyselina acetylsalicylová třetí nejprodávanějším lékem v počtu prodaných balení a prodalo se 529 920 balení a 248 881 balení přípravku Diklofenak. [38]

Nejčastějšími případy použití jsou [39]:

- úleva od bolesti po poranění, pooperačních výkonech nebo chronické bolesti (bolesti kloubů atd.),
- snížení bolestivých svalů při virových nebo infekčních onemocněních (snížení horečky atd.),
- ve spojení s antihistaminiky ke kontrole alergických reakcí.

V závislosti na organismu je dělíme [39] :

- neopiová analgetika (antirevmatika, nesteroidní protizánětlivá léčiva), která potlačují zánět a blokují produkci prostaglandinů. Např. salicyláty (tj. léky na bázi kyseliny acetylsalicylové),
- opiová analgetika, která působí na receptory v CNS a v dalších tkáních. Např. morfin, kodein, bezitramid atd.

Historie užívání analgetik je velmi dlouhá, protože hledání léků proti bolesti je spojeno s lidskou společností již od neolitu. První použité analgetika byly bylinné extrakty a byliny z různých bylin, jako je mák, angrešt, chmel, mandragora a hojně byl užíván také alkohol. Nejoblíbenější z nich byla sušená šťáva z nezralých mák známých jako opium. Tato látka se na dlouho stala nejpoužívanějším lékem na zmírnění bolesti a prošla starověkem až do středověku až do 19. století, kdy její použití v západní společnosti překročilo přípustný limit, který vedl k tlaku na vývoj nových opiových analgetik, nezpůsobujících závislost. První byl objeven alkaloid zvaný morfin lékárníkem Friedrichem Wilhelmem Adamem Sertürnerem. Použití morfinu však začalo mít obdobně kontroverzní průběh jako užívání opia, pokud jde o závislost možná ještě horší. Pak acetylaci morfia byla získána v roce 1874 anglickým chemikem Charlesem R. Adlerem Wrightem (1844-1894), derivátem pojmenovaným Heroin, který byl poté publikován s velkou pompou jako léčivý přípravek pro závislost na morfinu až v roce 1912 bylo použití a výroba Heroinu ve většině zemí zakázáno. Naštěstí ve stejné době jako byl v laboratořích známé farmaceutické firmy Bayer syntetizován Heroin, byla syntetizována i kyselina acetylsalicylová známa také pod obchodním názvem Aspirin. Syntéza některých analogií této kyseliny vedla k objevu dalších léčiv, jako je diklofenak nebo diflunisal. Co se týče paracetamolu, jeho objev je znám již od roku 1878, avšak na základě testů s kontaminovaným přípravkem byl považován za škodlivý a neúčinný. Teprve v roce 1946, z důvodu nových testů byl tento závěr přehodnocen a bylo také zjištěno, že paracetamol je hlavním metabolitem fenacetinu, který byl nejpoužívanějším antipyretikem a analgetikem ve stavech horečky [40; 41]. Ibuprofen byl objeven v padesátých letech, původně byl určený pro léčbu revmatoidní artritidy, ale jeho účinky na zmírnění bolesti se ukázaly být účinnější než u aspirinu. Na základě těchto historických faktů můžeme konstatovat, že zhruba od padesátých let minulého století začali neopiová analgetika pronikat do životního prostředí. U některých analgetik, jako je tomu v případě aspirinu, by to nemělo být problémem, protože se dobře rozkládá i v normálních biologických procesech, ale v případě diklofenaku je to již problém, protože se jedná o vysoce perzistentní látku, která má vysoký negativní vliv na mnoho vodních organismů například na populace pstruha duhového nebo a vlivem biomagnifikaci se pak negativně na některých druzích dravých ptáků [42]. Níže uvedená tabulka uvádí typy neopiových analgetik, jejich vlivu na životní prostředí a na výskyt ve vodním cyklu.

Tabulka 6 Neopiová analgetika – Antipyretika [29; 34]

Název	Použití, popis	Výskyt, chování	Negativní účinky	Možnosti degradace
Kyselina acetylsalicylová	má antiagregační účinky ¹² , je podáván preventivně v případě Infarktu myokardu, cerebrovaskulárních příhodách; jako analgetikum a antipyretikum se nepoužívá tolik. Je kontraindikován u dětí s virovými onemocněními (chřipka, varicela)	Ve vodním prostředí je přítomen jeho metabolit, kyselina salicylová je široce distribuována v různých matricích životního prostředí. Studie Thomase Heberer v Berlíně z roku 2002 ukazuje koncentraci při odtoku z ČOV 0,04 µg.l ⁻¹ [37]. Jiná studie z Řecka z roku 2013, uvádí, že na odtok z nemocnice, byla v řádu 1000 ng.l ⁻¹ , nicméně dále na odtoku z komunální ČOV již nebyl detekován.	Kyselina salicylová se také nachází v některých rostlinách, jedná se totiž v podstatě o přírodní rostlinný hormon. Obavy vznikají zejména z jeho vysoké koncentrace v odpadních vodách tekoucích na ČOV.	Dobře odbouratelný na konvenčních ČOV.
Paracetamol (USA Acetaminophen)	Působí přibližně na polovina pacientů. Je nejbezpečnějším analgetikem a v terapeutických dávkách a může být podáván i během těhotenství. Při intoxikaci (10-20 tablet) se však vyskytuje těžké toxické poškození jater	4-acetaminofen je jedním z nejčastějších léků v různých matricích životního prostředí, tj. Sedimentech, půdě nebo vodě. [43] Nedávno bylo zjištěno, že koncentrace v řece Tyne (UK) je vyšší než 65 µg.l ⁻¹ [44; 45] a v podzemních vodách používaných pro zásobování pitnou vodou v koncentraci 211 ng.l ⁻¹ a 1,89 µg.l ⁻¹ [46]	nedetekovány	Paracetamol jsou schopny degradovat pouze vybrané bakteriální kmeny, jako je Pseudomonas, Bacillus, Acinetobacter a Sphingomonas.

¹² Antiagregační účinky – snižuje srážlivost krve

Tabulka 7 Nesteroidní antirevmatika

Název	Použití, popis	Výskyt, chování	Negativní účinky	Možnosti degradace
Ketoprofen	používá se jako analgetikum a protizánětlivé činidlo při léčbě bolestí a zánětů, zejména ve svalch a kostech [38]	Až 80 % ze stolice a moči je vyloučeno v nezměněné formě [38]. V rámci životního prostředí a koloběhu vody je přítomen téměř ve všech matricích po celém světě [47]	má negativní vliv na růst a vývoj embryí a larev kaprů [48]. Podobně jako diklofenak má negativní vliv na populace divokých supů.	Přestože ketoprofen vykazuje při během čištění odpadních vod širokou škálu variability účinnosti [49] předpokládá se, že je v čistírnách odpadních vod odstraněn na úroveň přibližně 50-70 % [1]
Diclofenac	pro potlačení zánětu, léčení bolesti. Použití ve veterinární léčbě je kontroverzní kvůli jeho toxicitě, která může rychle zabít dravého ptáka, který jí mrtvá zvířata. V mnoha zemích bylo jeho veterinární použití zakázáno.	Od roku 2013 je věnována zvýšená pozornost výskytu diklofenaku v povrchových vodách [50], neboť se vyskytuje jak v čistírenských kalech, tak v odpadních vodách. Koncentrace v povrchových vodách je v rozmezí několik ng.l^{-1} až $15 \mu\text{g.l}^{-1}$ [51] 65 až 70 % se vylučuje močí a 20-30 % stolicí [52] Proto byl jako legislativní cíl pro schválení diklofenaku ve vodním prostředí doporučena hodnota 100 ng.l^{-1} v Evropě [53; 54].	Diklofenak způsobil prudký pokles populace supů na indickém subkontinentu – pokles o 95 % do roku 2003 a pokles o 99,9 % do roku 2008. Jeho účinky vyvolávají u tohoto druhu ptáku selhání ledvin [42] diklofenak také poškozuje druhy sladkovodních ryb, jako je pstruh duhový [55] Chronická toxicita u bezobratlých evokuje zpoždění vylíhnutí embrya [51] Taktéž ovlivňuje rozmanitost nitrifikačních bakterií v biologickém stupni ČOV [56]	k jeho degradaci dochází v přírodních podmínkách prostřednictvím metabolických procesů půdní mikroorganismů [57; 58]

4.1.2 Antibiotika

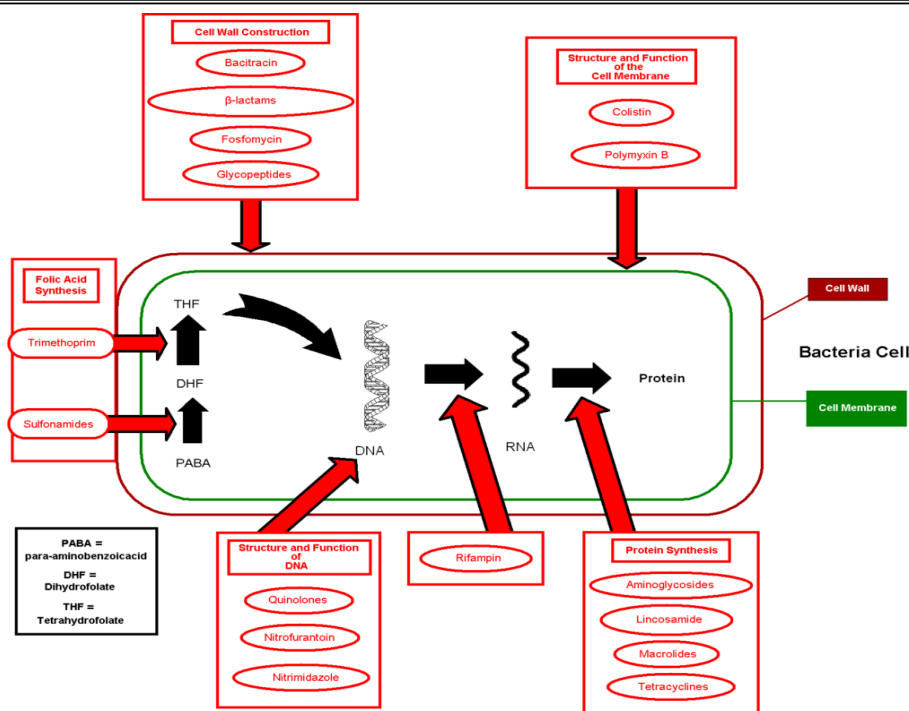
Léčivo sloužící k usmrcení nebo potlačení růstu mikroorganismů. Nejčastěji se předepisují pro léčbu bakteriálních onemocnění, ale jsou také účinné proti některým druhům hub a parazitickým prvokům. [59]. Tato skupina zahrnuje až 6000 látek, které mají antibiotický účinek, avšak použitelné pro léčebné potřeby, je v současné době pouze asi 70 z nich [60]. Užívání antibiotik se datuje již do dob starověké Číny a Egypta, kde se používalo přikládání plesnivých obkladů ze sójového mléka či plesnivého chleba na otevřené rány [61]. Oficiálně je nicméně objev antibiotik přičítán Arturu Flemिंगovi, který v roce 1929 popsal účinek Penicilinu na baktériích za což mu byla udělena Nobelova cena. Úspěch jeho práce však vycházel ze základů, které již dříve nastínil jeho předchůdci, jako jsou Luis Pasteur, Rudolf Emmerich, Charles-Joseph Bouchard a Ernest Duchesne.

Podle mechanismu účinku antibiotik lze rozdělit do dvou skupin:

- Baktericidní – usmrcující bakterie,
- Bakteriostatická – zastavení proliferace bakterií.

V závislosti na mechanismu působení na bakteriální buňku jsou antibiotika rozdělena do několika skupin:

- Antibiotika, která inhibují syntézu lipidů a dalších materiálů buněčných stěn – betalaktamová antibiotika, monobaktamy, karbapenemy, glykopeptidy, bacitracin.
- Antibiotika, která narušují cytoplazmatickou membránu – polyeny, polymyxiny, azoly, amfotericin B, ionofory.
- Antibiotika, která inhibují syntézu nukleových kyselin inhibicí DNA gyrázy: aminoglykosidy, novobiocin, chinolony; inhibicí RNA polymerázy: ansamyciny.
- Antibiotika, která interferují se syntézou bakteriálních proteinů – vazba na ribozomální podjednotku 30S: tetracykliny; vazba na podjednotku 30S a 50S: aminoglykosidy; vazba na podjednotku 50S: makrolidy, linkosamidy, amfenicoly, diterpeny, aminocyklitoly; tím, že brání inkorporaci aminokyselin do proteinu: amfenikolu.
- Antibiotika, která inhibují syntézu kyseliny listové – sulfonamidy, trimedoprim.



Obrázek 3 Schéma mechanismu působení antibiotik [56]

Obrovskou hrozbou v případě pronikání antibiotik do životního prostředí je tzv. Bakteriální rezistence, tj. schopnost bakterií odolávat antibiotické léčbě. V některých zemích, vzhledem k bakteriální rezistenci, karbapenemová antibiotika nefungují u více než poloviny léčených pacientů na pneumonii. Rezistence bakterie *E. coli* na jeden z nejčastěji používaných léků pro léčbu infekcí močových cest (fluorochinolonových antibiotik) je velmi rozšířená. V mnoha částech světa existují země, kde je tato léčba neúčinná u více než poloviny pacientů. Navíc v extrémním případě byla léčba jako neúčinná (cefalosporinová antibiotika třetí generace) potvrzena nejméně v 10 zemích (Austrálie, Rakousko, Kanada, Francie, USA bylo prokázáno, že až 350 000 případů je způsobeno rezistentními bakteriemi [62]. Antibiotika mohou být po podání pouze částečně metabolizována, u lidí a zvířat a se odhaduje maximální hodnota 30 %. [63].

Antibiotika pronikají do koloběhu vody několika způsoby:

- skrze čistírny městských odpadních vod,
- skrze kejdu hospodářských zvířat, jež je aplikovaná na zemědělské plochy, ze kterých jsou tyto látky propláchnuty do řek nebo infiltrovány do půdy a poté uvolňovány do podzemních vod,
- podávání antibiotik do akvakultury.

WHO důsledně zdůrazňovala nebezpečí preventivního podávání antibiotik sloužící v malých dávkách na podporu růstu hospodářských zvířat. Od roku 2006 Evropská unie zakázala preventivní používání dávek antibiotik pro hospodářská zvířata. V ostatních zemích světa (zejména v Číně a Indii) to však pokračuje. Od roku 2006 je neustále upozorňováno na zvyšující se rezistenci vůči antibiotikům.

Odolnost bakteriím vůči antibiotické léčbě je nejvíce podporována čistírnami odpadních vod, díky vysoké hustotě bakteriálních druhů přítomných na tomto místě dochází k tzv. Horizontálnímu přenosu genů mezi bakteriemi a lidskými patogeny. Horizontální přenos genů mezi druhy je pak vyvolán navíc selektivním vlivem těžkých kovů a biocidů [64]. Je také zajímavé poznamenat, že nemocniční odpadní vody představují pouze 1 % celkového množství antibiotik v komunálních odpadních vodách, což ukazuje, že hlavními producenty antibiotik v odpadních vodách jsou obyčejní obyvatelé. [63].

V Evropě a ve světě existuje několik projektů a panelů zabývajících se problematikou antibiotik.

- FEEDAP – Dohled nad užíváním antibiotik u hospodářských zvířat v EU;
- Evropské centrum pro prevenci nemocí (ECDC) - kontrola antimikrobiální rezistence a konzumace antibiotik u lidí.
- Evropská síť antimikrobiální rezistence (EARS-Net) - shromažďuje údaje o rezistenci na antibiotika z národních laboratoří.
- EUCAST – Evropský výbor pro testování antimikrobiální citlivosti.
- GLASS – Global Antimicrobial Resistance Tracking System WHO podporuje standardizovaný přístup ke shromažďování, analýze a sdílení údajů o antimikrobiální rezistenci na globální úrovni s cílem informovat o rozhodování, řídit místní, národní a regionální opatření.
- GARDP – Globální partnerství pro výzkum a vývoj v oblasti antibiotik Společná iniciativa iniciátorů Světové zdravotnické organizace (WHO) a drog pro zanedbávané nemoci (DNDi) podporuje výzkum a vývoj GARDP prostřednictvím partnerství veřejného a soukromého sektoru. Cílem partnerství 2023 je vyvinout a dodat až čtyři nové léčby zlepšením stávajících antibiotik a urychlením vstupu nových antibiotik.

Meziútvárová koordinační skupina pro antimikrobiální rezistenci (IACG) se skládá ze zástupců hlavních agentur OSN a dalších odvětvových agentur.

Tabulka 8 Vybrané typy antibiotik a jejich použití, negativní vliv nebo výskyt v matricích životního prostředí [60; 61; 62]:

SKUPINA	INDIKACE	ÚČINKY A VÝSKYT
Aminoglykosidy (streptomycin, neomycin, gentamicin)	Léčba infekcí způsobených gramnegativními bakteriemi, jako je E. coli, Klebsiella nebo P. aeruginosa, prokázala, že působí proti Leptospira a některým stafylokoky. Mají mnohem silnější vedlejší účinky než jiná antibiotika a mají pouze velmi úzké spektrum aktivity.	Bakterie s rezistencí na kanamycin neomycin byly nalezeny v surových vzorcích pitné vody v Louisianě [65]
Amfenikoly	Širokouhlá antibiotika účinná proti infekcím salmonel a H. influenzae se také používají k léčbě meningokokových nebo pneumokokových infekcí CNS nebo jako alternativa k tetracyklinům u závažných infekcí.	Bakterie s rezistencí na chloramfenikol byly nalezeny ve vzorcích surové vody pro pitné účely v Louisianě [65]
Cefalosporiny	Rozlišují se první, druhá, třetí, čtvrtá a pátá generace přípravků. Jsou to velmi účinná antibiotika a jsou poměrně často předepisována pro léčbu zánětů močových cest, zánětů kůže nebo otorinolaryngologických infekcí. Například v Německu bylo v roce 1997 předepsáno v průměru 56,7 balení cefalosporinu denně.	Jedná se o antibiotika s nejvyšší prioritou, která jsou uvedena na seznamu kritických důležitých antimikrobiálních látek pro humánní medicínu, které vydala WHO a neměly by být podávány hospodářským zvířatům. [66]
Glykopeptidová antibiotika	multi-rezistentní grampozitivní bakteriální infekce, záložní lidské antibiotikum	Bakterie s rezistencí vůči vankomycinu byly nalezeny ve vzorcích surové vody pro pitné účely v Louisianě [65]
Karbapenemy	Lék volby pouze pro život ohrožující nozokomiální infekce způsobené některými kmeny Enterobacter spp., Serratia spp., C. freundii nebo Campylobacter fetus; akutní nekrotizující pankreatitida, bakteriální meningitida	Podle WHO mohou díky rezistentním kmenům K. pneumoniae – běžným střevním bakteriím způsobit život ohrožující infekce – možnost léčby karbapenemovými antibiotiky u více než poloviny pacientů je naprosto neúčinná. [67]
Linkosamides	Léčba infekcí kostí a měkkých tkání. Jsou účinné proti stafylokokům a Bacteroides spp. Může být také použit při léčbě parazitických onemocnění, jako je toxoplazmóza, babesióza nebo malárie.	Bakterie s rezistencí na lincomycin byly objeveny ve vzorcích surové vody pro účely pití v Louisianě [65]

SKUPINA	INDIKACE	ÚČINKY A VÝSKYT
Makrolidy – erytromyciny	Léčba infekcí způsobených streptokoky, infekce kamylobakterem, listeriózou, záškrtem, bakteriální pneumonií a atypickou pneumonií (Mycoplasma, chlamydia), střevními chorobami způsobenými Shigella, Salmonella.	Bakterie s rezistencí na lincomycin byly detekovány ve vzorcích surové vody pro pitné účely ve státě Louisiana [65] Po celoevropské kampani na snížení užívání makrolidových antibiotik ve Finsku byl u streptokoků skupiny A pozorován trvalý pokles rezistence erytromycinu o 16,5 % na 8,6 %. [68]
Úzko-specifická penicilinová antibiotika	Léčba streptokokových, pneumokokových a meningokokových infekcí a infekcí způsobených citlivými stafylokoky, terapie syfilidy, kapavkou, záškrtem, křečemi, anginou pectoris, erysipelem, revmatickou horečkou, leptospirózou, aktinomykózou atd. Jedná se o lék první volby pro lymskou boreliózu.	Bakterie s rezistencí na oxacilin byly detekovány ve vzorcích surové vody pro pitné účely ve státě Louisiana [65]
Široké spektrum penicilinová antibiotika	Léčba hemofilických a enterokokových infekcí, nekomplikované záněty močových cest, zánět žlučových cest, bronchitida, listerióza	Jejich odstranění na běžných čistírnách odpadních vod dosahuje 60 % až 90 % [69; 70]
1. generace chinolonů	Léčba infekcí močových cest včetně dna, pouze proti gramnegativním bakteriím.	patří do jedné z látek, které jsou na seznamu kriticky důležitých antimikrobiálních látek pro humánní medicínu vydaných WHO a neměly by být podávány hospodářským zvířatům [66]
Fluorochinolony	Jsou účinné proti většině gram-pozitivních a gram-negativních bakterií (včetně Klebsiella spp., Proteus spp. A P. aeruginosa), také ovlivňují chlamydie, mykoplazmy a M. tuberculosis. Jsou účinné při léčbě infekcí horních a dolních dýchacích cest, dna, prostatitidy, antraxu a nemoci legionářů. Jsou drahé a rezervují antibiotika s indikací omezení.	Ciprofloxacin se nejčastěji vyskytuje v životním prostředí. Velmi nízký stupeň biologické degradace má však vysokou úroveň adsorpce [71]

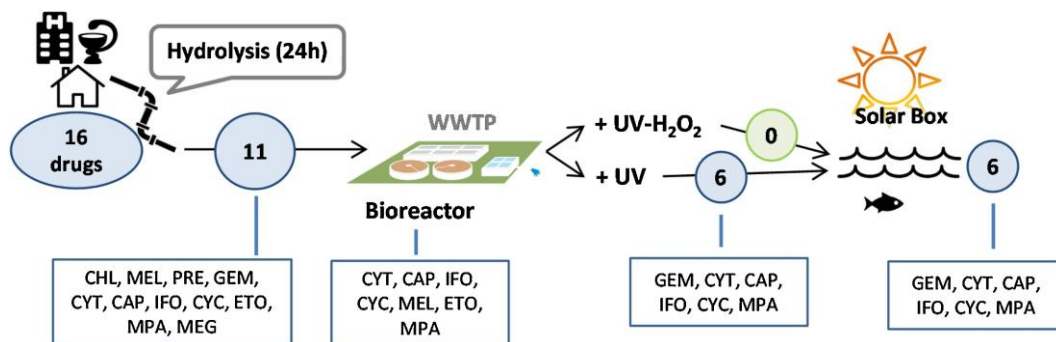
SKUPINA	INDIKACE	ÚČINKY A VÝSKYT
Streptograminy		vyvinuli se na neefektivnosti antibiotik pro grampozitivní bakterie, ale bakterie s rezistentním genem jsou nyní nalezeny například v řece Pekingu a na řece Xijiang v deltě Perlové řeky, kde prováděly celou řadu přítomných rezistentních bakterií ve vodě a sedimentech [72]
Sulfonamidy	objevy ještě před penicilinem. Nicméně, mají příliš mnoho vedlejších účinků, a proto jsou používána jen zřídka objednána, a pokud ano, víc pro ošetření pleti. Ve veterinární medicíně jsou však stále používána.	Nejběžnější antibiotikum v odpadních i povrchových vodách vyskytujících se v říčních sedimentech, především ve vzorcích z asijských zemí [73] Prokázání účinku na dafnie Kombinace tetracyklinu a sulfamethoxazolu zvyšuje přenos genů bakteriální rezistence v rámci ČOV [74]
Tetracykliny	Mají široké antimikrobiální spektrum; působí na většinu grampozitivních a gramnegativních bakterií, včetně některých anaerobů, rickettsie, chlamydií, mykoplasmat a některých prvoků, jako jsou améby.	Bakterie s tetracyklinovou rezistencí byly nalezeny ve vzorcích surové vody pro pitné účely v Louisianě [65] Podobně jako sulfonamidy jsou jedním z nejčastěji se vyskytujících antibiotik detekovaných jak v odpadních vodách, tak v kalových nebo říčních sedimentech.

4.1.3 Cytostatika

Historie vývoje cytostatik začala v roce 1940, kdy se američtí vědci pokoušeli využít terapeutických účinků aplikace chemických zbraní a testovali, že je možné specificky použít dusíkatého yperitu pro léčbu lymfomů (lymfatický nádor) [75]. Po skončení druhé světové války došlo k nárůstu vývoje léčby rakoviny. Jako první byly testovány antifoláty, jako je metotrexát, u kterých bylo prokázáno, že jsou úspěšné při léčbě rakoviny prsu u žen a při léčbě rakoviny kostní dřeně. Následoval objev 6-merkaptopurinu, který fungoval jako vysoce účinný antileukemický přípravek. Léky účinné v boji proti rakovině zahrnující alkaloidy z madagaskarského brčálku původně určené pro léčbu diabetu. Po roce 1955 se tlak společnosti na léčbu rakoviny zvýšil a nastala éra chemoterapeutik druhé generace. Po roce 1965 se začal používat kombinovaný chemoterapeutický přístup, když se pro léčbu používalo několik terapeutických činidel, jako je metotrexát, 6-merkaptopurin, vincristin (Vinca

alkaloid) a prednison, a tato léčba se ukázala jako velmi účinná. V současnosti téměř všechny úspěšné režimy chemoterapie rakoviny využívají tohoto paradigmatu současně podávaných léčiv, nazývaných také polychemie. Mezi další úspěšné léky v chemoterapii patří taxany, kamptoteciny, platinové látky, nitrosomočoviny, antracykliny a epipodofylotoxiny a léky na bázi hormonů jsou tamoxifen, lék používaný k léčbě rakoviny prsu. Skupina je pak inhibitory buněčného dělení metabolické dráhy, jako jsou inhibitory Bcr-Abl tyrosinkinázy a monoklonální protilátky.[76; 11]

Podle výše uvedených skutečností tak cytostatika začala vstupovat do koloběhu vody od 50. let. Cytostatické léky se objevily jako nové vodní kontaminanty díky jejich širokému použití v léčbě rakoviny. Cytostatika jsou prokazatelně genotoxická, mutagenní, cyanogenní, teratogenní a fetotoxická. [77]. Vstupní branou pro cytostatika do vodního prostředí jsou čistírny odpadních vod, nemocniční odpady, odpadní vody z domácností, vypouštění a likvidace léčiv. Běžné způsoby čištění nejsou zvláště účinné při odstraňování cytostatik. Je to opět skupina látek s různými hydrofilními a hydrofobními vlastnostmi. Použití anaerobních membránových reaktorů je velmi účinné při degradaci cytostatik [54] stejně jako pokročilé oxidační procesy (AOP) s UV-H₂O₂ nebo ozonem [78] to bylo ověřeno ve studii provedené v laboratorním testování 24 typů cytostatik, jejich perzistence proti hydrolytickému, biologickému a fotochemickému rozkladu a je graficky znázorněna na obrázku 7.2.



Obrázek 4 "Životní cyklus" cytostatik v životním prostředí, včetně počtu zkoumaných léků, studovaných procesů degradace a počtu zbývajících látek po každém stupni ošetření [76] Vysvětlivky zkratk: CHL- Chlormetine, MEL- Melphalan, PRE- Procarbazine, GEM- Gemcitabin, CYT- Cytarabine, CAP- Capecitabine, IFO- Ifosfamide, CYC- Cyclofosamid, ETO- Etoposide, MPA- Kyselina mykofenolová, MEG-

Tabulka 9 Vybraný typ cytostatiky zjištěný ve vodním cyklu. [74; 77]

Název	Léčba	Kontaminace, chování	Negativní účinky	Degradace
Kyselina mykofenolová (MPA)	Alogenní profylaktická léčba při transplantaci ledvin, srdce a jater. A6	60% léčiva je vyloučeno močí jako glukuronid kyseliny mykofenolové, zatímco 3 % zůstávají nezměněno [38] a putují do ČOV. Metabolit glukuronidu dekonjuguje a znovu tvoří původní sloučeninu, dosahuje až do pitné vody, MPA byl detekován ve všech vzorcích řeky z řeky Llobregat ve Španělsku při koncentracích v rozmezí od 17,0 do 56,2 ng. l ⁻¹ [79]	Endokrinní disrupce narušuje DNA zvířat	Odhadovaná míra odběru je 41 % předpokládaná hodnota pKa od 3,57 do 4,61 a rozdělovací koeficient oktanol / voda od 2,8 do 4,2, avšak při úpravě pitné vody sedimentací a filtrací písku, může dojít k úplnému odstranění [79]
Cyclofosamid	Léčba leukémie a maligních lymfomů [38]	Z nedetekovaných do 43 ng l ⁻¹ v nemocničních odpadních vodách, od 8 do 26 ng.l ⁻¹ v odpadních vodách, od 7 do 25 ng .l ⁻¹ , ve výkonu ČOV a od 0 do 20 ng .l ⁻¹ v řece [80]	karcinogenní	Nízká biologická degradace [79]
Tamoxifen	Léčba rakoviny vaječníků, dělohy, prostaty,	Tamoxifen v přírodní vodě do 200 ng l ⁻¹ [81]	karcinogenní	Absorbuje anaerobní kal. [79]
Methotrexate	Rakovina kostní dřeně a kožní buňky, leukémie, bolesti hlavy, prsa	V nemocničních odpadních vodách z "nedetekovaných" na 19 ng .l ⁻¹ nižší než vstupní ČOV z "nedetekovaných" do 23 ng .l ⁻¹	karcinogenní	vysoké odstranění anaerobní biodegradací.
Ciprofloxacin	Kromě léčby rakoviny se také používá například k léčbě infekcí močových cest, a proto je pravděpodobné, že bude detekován ve vysokých koncentracích v OV.	byla zjištěna na velkých úrovních v nemocničních kanalizacích (od 3089 do 14 826 ng.l ⁻¹), odpadních vodách (od 1172 do 1558 ng .l ⁻¹) a dokonce i v povrchových vodách před ČOV (od 8 do 56 ng .l ⁻¹) a od 7 do 103 ng .l ⁻¹ v odpadních vodách ČOV [82]	Toxický, inhibuje růst sladkovodních řas [81]	Vysoce perzistentní [79]

4.1.4 Farmaka pro léčbu duševních onemocnění

Tato skupina zahrnuje relativně širokou škálu léčiv různého původu a různých mechanismů působení. Můžeme je rozdělit podle dvou aspektů, z hlediska psychofarmakologie, tabulka 9. Alternativně může být rozdělen do podskupiny některých psychofarmaceutických skupin na základě chemického složení [83].

Tabulka 10 Z hlediska psychofarmakologie je dělíme podle účinků na mentální funkci [82]

Parametr	Smysl Ovlivňující	Skupina psychofarmak	Příklady
Bdělost (Vigilita)	Pozitivní	Psychostimulanty	Amphetamine, amfetaminil, ephedrine, phenmetrazine, Mazindol, Mezokarb, Pemolin, methylphenidate
		Nootropika	Piracetam, Pyritinol, Meklofenoxate
	Negativní	Hypnotika	Barbital, Amobarbital, hexobarbital; Glutethimid, Metachalon, Klomethiazol; nitrazepam, flunitrazepam, Triazolam; Zopiclone, zolpidem
Afektivita	Pozitivní	Antidepresiva	Imipramine, Desipramine, Amitriptyline, Nortriptyline, Clomipramine, Maprotiline, citalopram, fluoxetine, Fluvoxamine, Mianserin, Buspirone, Moclobemide, Li ⁺
		Anxiolytika	Guaifenesin, Meproamate; Diazepam, alprazolam, oxazepam; Neuroleptika and antidepresiva
	Negativní	Dysphoricum	reserpine, clonidine, methyl dopa
Psychologická integrace	Pozitivní	Neuroleptika	Thioridazine, Chlorpromazine, Chlorprothixene, Levopromazin, haloperidol, Perphenazine, clozapine, Amisulprid, risperidone
	Negativní	Halucinogeny	Lysergic, cocaine, amphetamines, ketamine, hashish, marijuana, phencyclidine, mescaline

Neuroleptika zahrnují fenothiaziny (chlorpromazin), xanten a thioxanten, různé tricyklické struktury, tetracyklické struktury, pentacyklické struktury (rezerpin), butyrofenony (haloperidol), difenylbutylpiperidiny, piperaziny, benzimidazolinony, bicyklické antagonisty 5-HT₂ a D₂, imidazolidinony, naftenové deriváty, benzamidy

Antidepresiva zahrnují

Inhibitory zpětného vychytávání monoaminů – tricyklická (imipramin), tetracyklické (mianserin, maprotilin), třetí generace antidepresiv inhibuje vychytávání jen jednoho neurotransmiteru dělí se na selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu – antidepresiva inhibující zpětné vychytávání serotoninu (SSRI a SARI), – antidepresiva inhibující zpětné vychytávání noradrenalinu (NARI) a – antidepresiva inhibující zpětné vychytávání dopaminu (DARI).

Inhibitory monoaminoxidázy I-MAO – (dříve thymoeretika) - moklobemid, brofaromin a toloxaton.

Anxiolytika (trankvilizéry, antimykotika), skupina zahrnující benzodiazepiny (diazepam), heterocyklické diazepiny, benzazepiny a ligandy benzodiazepinových receptorů, difenylmethanové deriváty, piperazinové a piperidinkarboxyláty, chinazolinony, thiazin, triazoly, jiné heterocyklické a imidazolové deriváty, deriváty propandiolu a karbamátové deriváty a karbamátové složky a anthracenové deriváty.

Historie léčby s duševním onemocněním se datuje do starověkého Egypta, když si lidé začali uvědomovat, že někteří jedinci jsou po mentální stránce více či méně odolní. Starověké kultury, tyto odchylky v chování připisovali zlým duchům nebo nadpřirozeným silám. Při léčbě těchto duševně nemocných lidí byla často používaná Ayurvéda (starověká Indie) léčba pomocí různé vůně bylin, aromatických mastí apod. dalším řešením pak bylo oddělení těchto jedinců od zbytku společnosti. Vývoj moderních psychofarmak pochází z druhé poloviny 19. století, kdy se do léčebných procesů zavádí morfin, bromid draselný, chloralhydrát, hyoscin, paraldehyd atd. Další etapa vývoje přichází v první polovině 20. století, která zavádí do terapeutických procesů kyselinu nikotinovou, penicilin, thiamin, což vedlo k eradikaci psychiatrických poruch způsobených například syfilidou nebo psychózou mozkové obrny. Ve druhé polovině 20. století bylo zavedeno tzv. Psychotropní léčivo, jako je chlorpromazin, alifatický fenothiazin a reserpin, derivát indolu; dva strukturně a funkčně odlišná antidepresiva, tj. iproniazid, inhibitor hydrazin monoaminoxidázy (MAOI) a imipramin, inhibitor iminodibenzyl (dibenzoazepin) monoamin (re) vychytávání (MAOI); anxiolytický, tj. meprobamát a propandiol; a stabilizátor nálady, tj. uhličitán lithný, anorganická sůl. Současná moderní psychofarmakologie nadále používá "psychotropní léky" a snaží se co nejvíce zaměřit na léčivé účinky mozkových monoaminů a jejich metabolitů, které se podílejí na přenosu neuronů do synaptické štěrbiny. [84]

Depresivní porucha je nejčastější porucha nálady ve Spojených státech s celoživotní prevalencí 14,4 %. [85]. SSRI jsou většinou prvním krokem léčby a je u nich dobře měřitelný pokrok v léčbě pacienta ve srovnání například Bupropion – tricyklická antidepresiva atd. [86].

Vstup léčiv s duševním onemocněním do koloběhu vody je datován na přelomu druhé poloviny 20. století. Zvýšená pozornost věnovaná jejich výskytu ve vodních cyklech se začíná objevovat až teprve na přelomu tisíciletí, kdy využití analytické technologie s nižší úrovní detekce odhalilo koncentrace antidepressiv a antipsychotik v odpadních a povrchových vodách. [87; 88]. Bylo ověřeno, že účinky na živé organismy jsou nebezpečné i při nízkých koncentracích, mohou evokovat poruchy homeostázy v centrálním a periferním nervovém systému u obratlovců a v jiných bezobratlých, nebezpečná je i prokazatelná synergie s jinými farmaceutickými látkami [89]. Antidepressiva jsou jedním z nejvíce předepisovaných léků v případě léčby duševního zdraví, proto také patří mezi nejčastěji zjištěné léky na duševní zdraví ve vodních matricích. Nejčastěji jsou z této skupiny léčiv detekovány fluvoxamin, fluoxetin, norfluoxetin, paroxetin, sertralin, citalopram, fluvoxamin, desmethylfluvoxamin, mirtazapin a desmethylmirtazepin, desmethylsertralin, venlafaxin, O-desmethylvenlafaxin, bupropion, amitriptylin, nortriptylin, karbamazepin, (často označovaný jako antiepileptický lék, je také předepisován pro léčbu manických stavů nebo pro léčbu bipolárních poruch) a 10,11-dihydrokarbamazepin, tramadol [90; 91; 92]. Konvenční metody čištění odpadních vod, v případě antidepressiv a antipsychotik průměrné účinnosti eliminace okolo 30 % [93].

5 Detekce xenobiotik v odpadních vodách a jejich základní chemicko-fyzikální parametry

Výskyt xenobiotik ve vodě a jejich účinky na organismy závisí jednak na fyzikálně-chemických vlastnostech jednotlivých látek a dále na podmínkách, za kterých byly vypuštěny do vodního cyklu. Důležité jsou také vzájemné interakce xenobiotik s dalšími látkami vyskytující v jednotlivých fázích jejich cesty od původce až po recipient.

V případě fyzikálně-chemických vlastností můžeme jako základní parametr ovlivňující chování xenobiotik ve vodním cyklu stanovit, zda se jedná o látku:

- hydrofilní (tj. ve vodě rozpustné),
- hydrofobní (tj. nerozpustný ve vodě),
- lipofilní – schopnost rozpouštět se v tuku (nebo lipofobní).

Dále je možné za pomoci různých faktorů a koeficientů částečně předvídat jejich chování ve vodním prostředí, tj. zda se látka bude například sorbovat na pevných částicích nebo aktivovaném kalu.

Mezi nejčastěji používané patří:

Koeficient biodegradace (konstantní) K_{biol} – vyjadřuje kinetickou rychlost biodegradace látky v gramech na gram suspendovaných látek za den.

Úroveň biodegradace látky může být klasifikována podle svého K_{biol} na:

- velmi vysoce biologicky rozložitelná ($K_{\text{biol}} > 5 \text{ l g SS}^{-1} \text{ d}^{-1}$),
- vysoce biologicky rozložitelná ($1 < K_{\text{biol}} < 5 \text{ l g SS}^{-1} \text{ d}^{-1}$),
- mírně biologicky rozložitelná ($0,5 < K_{\text{biol}} < 1 \text{ l g SS}^{-1} \text{ d}^{-1}$),
- sotva biologicky rozložitelná ($K_{\text{biol}} < 0,5 \text{ l g SS}^{-1} \text{ d}^{-1}$) [8].

Adsorpční koeficient K_{ad} – někdy také označovaný jako koeficient distribuce pevné látky a vody (K_{ad} v l kg^{-1}), který je definován jako poměr mezi hmotností látky v pevné matici na koncentrací látky v kapalně fázi. Za určitých podmínek lze tuto hodnotu odvodit od z níže uvedeného rozdělovacího koeficientu K_{ow} .

Rozdělovací koeficient v referenčním systému oktanol / voda K_{ow} – je definován jako poměr koncentrace chemické látky v oktanolu k jeho koncentraci ve vodě v rovnovážném stavu tohoto dvoufázového systému. Vše v rovnováze, při dané teplotě. Platí, že čím je K_{ow} vyšší tím bude xenobiotikum lipofilnější [8].

Pro rozdělovací koeficient n-oktanol – voda platí:

$$K_{\text{ow}} = \frac{C_o}{C_w} \quad (1)$$

kde:

C_o – rovnovážná koncentrace látky v n-oktanolu [mg. l^{-1}],

C_w – rovnovážná koncentrace látky ve vodě [mg. l^{-1}].

Rozdělovací koeficient (K) se obvykle udává jako dekadický logaritmus ($\log K_{\text{ow}}$).

$K_{\text{ow}} < 10$ látka je hydrofilní, má vyšší rozpustnost ve vodě,

$10 < K_{\text{ow}} < 10^4$ látka se dobře akumuluje v tukové tkáni.

Rozdělování koeficient půda (sediment)/voda K_{oc} (Koeficient adsorpce na organický uhlík) – Je definován jako míra tendence organické látky být adsorbována půdou a sedimentem. Hodnoty K_{oc} se mohou pohybovat od 1 do 107. Vysoké hodnoty K_{oc} znamenají látka má tendenci se vázat na půdu nebo sediment. Koeficient adsorpce na organický uhlík je možné vypočítat na základě rozdělovacího koeficientu oktanol – voda.

$$K_{\text{oc}} = 1,26 \cdot K_{\text{ow}}^{0,81}, \quad (2)$$

kde: K_{ow} – rozdělovací koeficient oktanol – voda [mg. l^{-1}].

Biokoncentrační faktor (BCF) - charakterizuje rovnovážný poměr mezi koncentrací v organismu a koncentrací v okolním prostředí, nejčastěji ve vodě. Používá se především pro adsorpci a inkorporaci látky do biomasy [9].

Jednotlivé koeficienty do určité míry závisí například na faktoru biokoncentrace a koeficientu K_{ow} , protože čím vyšší je logaritmická hodnota K_{ow} , tím vyšší je koeficient biokoncentrace.

BCF je možné stanovit na základě rozdělovacího koeficientu oktanol – voda K_{ow} ze vztahu:

$$\log BCF = 0,76 \log K_{ow} - 0,23, \quad (3)$$

kde: K_{ow} – rozdělovací koeficient oktanol – voda [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$].

Základní informace o přítomnosti xenobiotik ve vodním cyklu jsou dány jejich původci a dále samozřejmě vstupními cestami, kde jsou zcela nepochybně hlavní branou ke vstupu xenobiotik do vodního cyklu čistírny odpadních vod. ČOV představují imaginární interferenční hranici mezi naší moderní lidskou společností a přírodním prostředím; jedná se o interakční prostředí kde dochází k degradaci původních látek a zároveň k fyzikálním, chemickým a biologickým reakcím podílejících se na tvorbě různých metabolitů, kometabolitů konjugátů či dekonjugátů. Zároveň jsou těmi to látkami ovlivňovány i samotné biologické procesy, což můžeme další vliv na úroveň jejich fungování, například vliv antibiotik na různé typy anaerobních bakterií v ČOV. [11]

Hlavní vodítko pro detekci predikce léčiv v odpadních vodách je farmakokinetika, které určuje metabolismus léčiva v organismu, tj. kolik z původní látky tělo vylučuje v nezměněné formě a kolik bylo přeměno do formy metabolitů. U léčiv je možné tyto informace dohledat v databázi EMEA (Evropská agentura pro léčivé přípravky).

6 Dopad, účinek xenobiotik na životní prostředí

Negativní účinky xenobiotik na živé organismy vždy závisí na 4 základních faktorech:

- době expozice,
- druh organismu, jež byl expozici vystaven (tedy jedná-li se například o bakterie, rostliny, vyšší živočichy apod.),
- koncentrace kontaminantu – v jakých dávkách byl organismus vystaven,
- vývojová fáze jedince – zde je možné také zvážit stav jedince (nemoc, oslabení apod.).

Seznam základních negativních účinků je uveden níže, přičemž některé z účinků se pro jednotlivé látky překrývají, tj. význam reprotoxicity v některých případech odpovídá popisu endokrinního narušení a jedna látka může mít více účinků na organismy.

Bioakumulace, biokoncentrace a biomagnifikaci

Bioakumulace je definována jako jednoduchá absorpce látky, akumulace látky v čase nebo retence látek [12; 13]. Bioakumulační faktor se obvykle vypočítá jako poměr koncentrace požadované sloučeniny v biotě vzorku (rostliny, zvířata) k životnímu prostředí (např. půdě nebo vodě). [14] Pro přesnou bioakumulaci jsou k dispozici méně empirických údajů. Jedním z kritérií bioakumulace je použití rozdělovacího koeficientu oktanol / voda (K_{ow}) > 5 , jak je uvedeno v příloze D Stockholmské úmluvy. [15]. Alternativně může být definován podle OECD, kde $\log K_{ow} > 3$ znamená, že látka bude mít tendenci se hromadit [16].

Biokoncentrace je dána hodnotou faktoru biokoncentrace.

Biomagnifikace je přenos xenobiotických látek v potravinovém řetězci, kde spotřebitel zjistí vyšší koncentrace ve srovnání s koncentrací zdroje. Zvýšení vnitřní koncentrace (v tuku) léčené látky v organismech na následných trofických úrovních v potravinovém řetězci. Při posuzování, zda je chemická látka biologicky odbouratelná, by měly být zváženy mechanismy spouštějící zvýšenou koncentraci kontaminantů při vyšších trofických úrovních [17].

Endokrinní disrupce

Schopnost látek narušit endokrinní systém. Látky ovlivňující endokrinní systém se nazývají endokrinní disruptory (anglické narušení – přerušení, přerušení). Světová zdravotnická organizace (WHO) definovala endokrinní disruptory (EDS) jako „exogenní látku nebo směs, která mění funkci endokrinního systému a následně způsobuje nepříznivé účinky na zdraví organismu, jeho potomků nebo subpopulací“. [18].

Některé z prokazatelných účinků xenobiotik ze skupiny farmak na endokrinní systém:

- schopnost ovlivnit transkripci genů RNA,
- cytochrom P 450 (CYP) - enzymová skupina, která významně přispívá k metabolismu xenobiotik (léčiv), degraduje se z těla, například diazepam, kodein ibuprofenu a další, tento soubor enzymů se nachází téměř ve všech zvířatech a rostlinách. druhy včetně bakterií a hub [19],
- non-P450 Aldehyd Fenol Oxidační Enzymové Systémy – Systémy používané ke katalyzování degradace aldehydů, z nichž nejznámější je aldehydhydrogenáza (ALDH), která ovlivňuje embryonální vývoj, oxidační stres, rozvoj rakoviny [20],
- reakce na oxidační stres (nedostatek kyslíku v těle) [21; 22],
- dochází k deregulaci volných radikálů (ROS) v těle (superoxid (O_2^-) - peroxid vodíku (H_2O_2) - dochází k poškození tkáně,
- cirkadiánní biorytmus (vnitřní hodiny závislé na produkci tělesného spánku regulujícího hormony melatoninu),
- syntéza steroidních hormonů [23].

Toxicita

Schopnost syntetických a přírodních látek způsobit živé organismy, se kterými přicházejí do styku s akutní nebo chronickou otravou. Toxicita je vyjádřena pro LD50 zkratkou LD (anglicky letal dose). V kombinaci s číslem udávajícím procento mrtvých zvířat, ve kterých byla látka testována, například LD50, s podílem na kg podávané látky, věkem zvířat, druhem zvířat a intervaly podávání. Několik studií týkajících se vodních organismů ukázalo toxicitu ciprofloxacinu na zelené řasy [24], toxicita fluorochinolonových antibiotik (ciprofloxacin, lomefloxacin, ofloxacin, levofloxacin, enrofloxacin a flumequin) u pěti vodních organismů, sinic; *Microcystis aeruginosa*, tetřev hlucháň; *Lemma minor*, zelené řasy; *Pseudokirchneriella subcapitata*, korýši; *Daphnia Magna* a hustá hnědá; *Pimephales promelas* [25].

Karcinogenita

Expozice organismu danými látkami vede k nežádoucí buněčné proliferaci vedoucí k rakovině. Například EE2 je prokazatelným o karcinogenem u lidí (postmenopauzální léčba estrogenem v kombinaci s estrogen-progesteron) a dále existují i důkazy o karcinogenitě estrogenů a estronů na zvířata [26].

Reprotoxicita

Schopnost zasahovat do reprodukčního a imunitního systému zvířat a lidí. V případě léčiv například fluoxetin indukoval časně líhnutí larvy glochidie [27].

Mutagenita (genotoxicita)

Způsobuje nevratné genetické změny a může postihovat jednotlivé geny, genový blok nebo dokonce celý chromozom. Mutagenní účinek závisí jak na dávce genotoxické látky, tak na době expozice. Mutagenní změny v tělech organismů mohou být přenášeny do následných subpopulací. Typickými zástupci genotoxických činidel jsou diklofenak a 17α -ethinylestradiol způsobující mutagenní změny nejčastěji u řas, ryb a některých obojživelníků. [28; 29; 30].

Teratogenní účinek

Schopnost chemických látek vyvolat fyziologickou poruchu jedince v prenatálním stavu. Obecně je označujeme za teratogeny. Hlavními teratogenními látkami jsou cytostatika, tetracyklinová antibiotika a antiepileptika.

7 Metody klasifikace a rizikové analýzy

V rámci evropské unie byla institutem pro zdraví a ochranu konzumentů vytvořena technická příručka pro rizikové analýzy (rok vydání 2003), jež stanovuje tři možné přístupy pro hodnocení rizikovosti látek:

- Kvantitativní PEC /PNEC odhad environmentální analýzy rizik substancí, porovnávající jednotlivé koncentrace látek (PEC – predicted environmental concentration), zdali jsou pod hranicí tzv. no-effect koncentrací PNEC (predicted no-effect environmental concentration), což jsou koncentrace daných látek, jež ještě nemají nepříznivý účinek na vodní biotu.
- Kvalitativní environmentální analýza rizik substance.
- PBT odhad, odhaduje schopnost látek odolávat přírodní degradačním procesům, bioakumulační potenciál a toxicitu.

Hodnoty PEC jsou odvozeny z již měřených dat nebo z modelových výpočtů. PNEC jsou stanoveny na základě laboratorních testů v několika případech na odvozených modelových výpočtech.

Podle týmu dánských vědců z Dánské technické univerzity (A. Baun, E. Eriksson, A. Ledin, P.S. Mikkelsen) jsou však tyto metody zcela nevhodné pro dešťové vody a povrchové vody určené pro znovu využívání. Proto vyvinuly další dvě metodiky

- v roce 2009 RICH process (Ranking and Identification of Chemical Hazards),
- v roce 2007 CHIAT proces (Chemical Hazard Identification and Assessment Tool).

Tyto metody při analýze kalkuluji i s hodnotou nebezpečí, kterou je potřebné vzít do úvahy při zúčtování celkového dopadu xenobiotik na vodní ekosystém.

Obecně je nezbytné vytvořit a ohodnotit potenciální chemické ohrožení v dešťových vodách, udržitelné kontroly kvality zdrojů dešťové vody a jejího odtoku předtím, než prosákne do podzemní vody nebo do povrchového recipientu, protože identifikace rozředěných xenobiotik v recipientech je často zcela nemožná. V mnoha případech, jsou vstupní koncentrace příliš nízké, anebo naopak zpoždění či procesy degradace mohou koncentrace neúměrně zvětšit. Proto je potřeba uvážit výsledky přesnosti kvantitativní analýzy pro ohodnocování jednotlivých substancí. Aktuálně je v současném hodnocení podle EU řada mezer ve znalosti potenciálních efektů, či transformačních procesů, které mohou xenobiotika v dešťových vodách navodit. Toto souvisí i s identifikací sloučenin přítomných v organické hmotě odpadní vody, pokud jde o mechanismy degradace

Běžný problém při provádění klasifikace a analýzy rizik xenobiotik v odpadních vodách je také výběr chemikálií, které do ní budou zahrnuty, protože analyzování těchto látek je poměrně finančně náročné.

V návaznosti na složité klasifikace a odhadu rizikovosti mikropolutantů před námi vyvstává další problém týkající se testování a analýz těchto látek.

Vzhledem k složitým interakčním vztahům, jež mezi těmito látkami panují, se vyhodnocování koncentračního složení vzorků prováděné pouze na základě identifikace jednotlivých látek nezdá, být vždy zcela efektivní.

Možným řešením se proto jeví testování odpadních vod pomocí in vitro biotestů (eventuelně kombinací těchto testů s klasickými chemickými analýzami), jež nám vyhodnotí celkový potenciál vzorku, tzn. schopnost látek obsažených v odtoku ovlivňovat živé organismy v recipientu např. v estrogení nebo androgení potenciál.

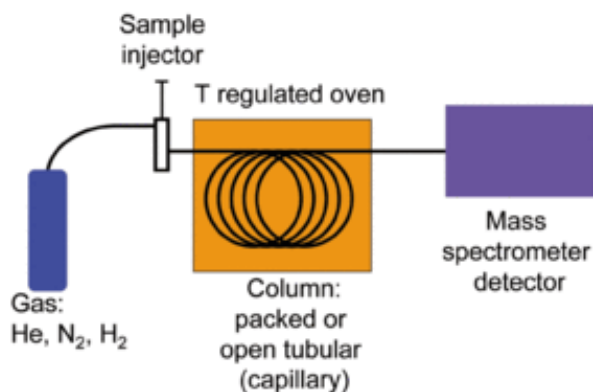
8 Metody detekce

Xenobiotika patří k látkám, jež se vyskytují ve velmi nízkých koncentracích, běžně se pro jejich analyzování používáme metody LC-MS a GC-MS. Pro určení celkového potenciálu vzorku se používají in vitro biotesty nebo jejich kombinace s LC-MS a GC-MS.

8.1 Chemické analýzy

Kapalinová chromatografie-hmotnostní spektrometrie (LC-MS, nebo alternativně HPLC-MS) je analytická technika, která kombinuje fyzické separační schopnosti kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrie. LC-MS má velmi vysokou citlivost a selektivitu. Obecně tuto techniku aplikujeme na obecné detekce a identifikace potenciálních chemických látek v přítomnosti jiných chemických látek (ve složité směsi). Omezení LC-MS je, že často nedokáže rozlišit konkrétní metabolity. Účinnější je pro odhalování metabolitů plynová chromatografie (GC-MS). Hmotnostní spektrometrie (MS) je analytická technika, která funguje na principu oddělování iontů na základě poměru hmotnosti iontů k/ke náboji iontů. Používá se pro určení hmotnosti částic, pro stanovení elementárního složení vzorku nebo molekuly a pro objasnění chemické struktury molekul, jako jsou peptidy a dalších chemických sloučenin.

Plynová chromatografie-hmotnostní spektrometrie (GC-MS) je metoda, která kombinuje vlastnosti plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie pro identifikaci různých látek v rámci zkušební vzorku. Je schopná identifikovat stopové prvky materiálu. Všeobecně je vhodná pro forenzní identifikaci látek. GC-MS se skládá ze dvou hlavních stavebních bloků: Plynový chromatograf a hmotnostní spektrometr (obrázek 5). Díky společnému používání, umožňují mnohem jemnější stupeň identifikaci látek, než pokud jsou užity samostatně. Kombinací obou procesů snižuje možnost vzniku chyb, protože to je extrémně nepravděpodobné, že dvě různé molekuly se budou chovat stejně, jak v plynovém chromatografu, tak v hmotnostním spektrometru.



Obrázek 5 Plynová chromatografie-hmotnostní spektrometrie [94]

8.2 Invitro biotesty

ELISA (*angl. zkratka Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*), známá také jako EIA (*angl. zkratka enzyme immunoassay*), je analytická metoda využívaná ke kvantitativnímu stanovení různých cizorodých látek. Tato metoda má řadu variant. Všechny jsou založeny na vysoce specifické interakci cizorodé látky a protilátky, přičemž na jednoho z těchto partnerů je navázán enzym. Při interakci pak enzym katalyzuje chemickou přeměnu substrátu, který je přidán do reakční směsi, na produkt, který je barevný (nebo vydává záření). Stanovuje se pak spektrofotometricky, nebo na základě fluorescence (luminiscence)

ER-CALUX (**C**hemical **A**ctivated **L**uciferase **eX**pression assays) je jednou z variant ELISA metody speciálně vyvinuté pro zjištění estrogenního potenciálu vzorku. Pro detekci jsou použity různé buněčné linie např. T47D.luc (buněčná linie prsního karcinomu). Míra např. estrogenní aktivity se stanovuje jako míra indukce luciferázové aktivity jež je vyprodukovaná následně po syntéze se vzorkem (respektive jakmile je aktivován příslušný receptor daných buněčných linií dojde k vyprodukování bioluminiscence). Je změřena pomocí mikrodestičkovém luminometru, expoziční doba, během které dochází k indukci luciferázy je 24 hod. Výsledkem měření je křivka koncentrace-indukce, ze které odvozujeme tzv. hodnotu EC-indukční ekvivalentní koncentrace určující míru estrogenní odpovědi.

9 Možnosti eliminace xenobiotik z odpadních vod

9.1 Faktory ovlivňující degradaci xenobiotik

Jak již bylo napsáno v úvodu, xenobiotika představují poměrně široké spektrum sloučenin, jež nevykazují vždy stejné fyzikálně chemické vlastnosti, na základě čehož můžeme konstatovat, že i účinnost různých čistírenských procesů na úroveň jejich degradace bude rozdílná. Proto by se při návrhu čištění a úpravy dešťových a splaškových vod mělo vždy vycházet z detailního rozboru vody, z přihlídnutí k možné vzájemné interakci jednotlivých látek. Podle nejnovějších průzkumů bylo zjištěno, že míra odstraňování látek xenobiotické povahy se odvíjí od několika zásadních faktorů: roční období, teplota, intenzita slunečního záření, doba hydraulického zdržení (zdržení vody) [34]. Obzvláště doba hydraulického zdržení velmi silně ovlivňuje degradační proces těchto látek.

V oblasti vodního hospodářství je nutné především zamezovat nežádoucím únikům do povrchových vod nasazením účinných čistírenských technologií. Jak bylo uvedeno, biologické způsoby čištění odpadních vod poskytují rozdílné účinnosti degradace v závislosti na konkrétním typu látky (odvíjí se od hodnoty $\log K_{ow}$). Například monochloropropylový derivát TCPP uvolňující se do dešťových vod hlavně z výstavby, demolice a rekonstrukcí má silné hydrofobní vlastnosti tedy biologické degradační metody s aktivovaným kalem se stávajícími parametry nemají na snížení jejich koncentrací v odtoku z ČOV prakticky žádný vliv. V některých případech je proto vhodné obrátit pozornost směrem k perspektivním inovativním čistírenským technologiím fungujících jako dodatečný terciální stupeň čištění v rámci ČOV, jež by sloužily na odbourávání či zachytávání xenobiotik, které konvenční ČOV není schopna zachytit.

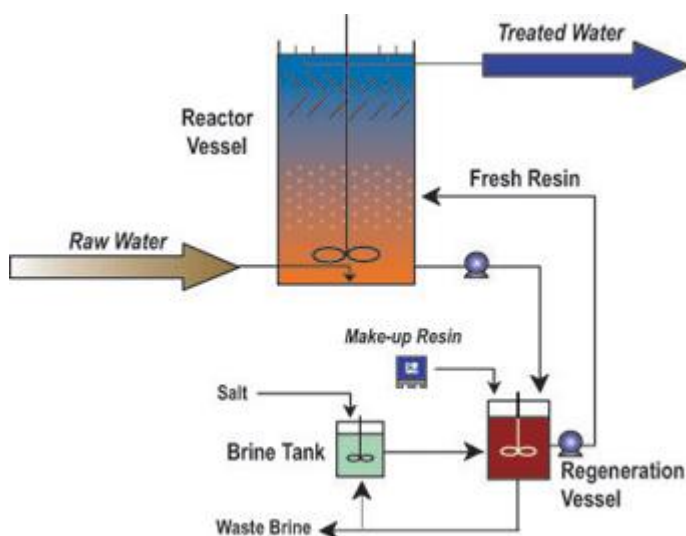
V případě čištění zachytávaných dešťových vod a vod z tajících sněhů by se jevílo jako velmi účinné zavést decentralizované systémy nejen z hlediska zvýšení celkové účinnosti odbourávání těchto látek, ale i na základě výdajů spojených s kombinovaným čištěním dešťových a splaškových vod a také by to přispělo k lepšímu zabezpečení a ošetření v případě znovu využití těchto vod.

Mezi nové metody prosazující se v degradaci xenobiotik (mikropolutantů) jsou například pokročilé oxidační procesy, v současnosti velmi populární membránové technologie, různé sorpční procesy nebo tzv. zelené metody (bioremediace).

9.2 Metody chemické degradace

Srážení pomocí solí hliníku a železa

Existuje několik studií, jež se ve svých závěrech značně liší např. Snyder a kol v roce 2003 dospěli k výsledku, že běžná koagulace není schopná odstranit xenobiotika [88]. Nicméně Auriol a kolektiv zase ve své studii z roku 2006 uvádějí, že při použití chloridu železitého a MIEXu® (komerční zařízení využívající sorpčních schopností syntetické pryskyřice) se podařilo odstranit několik druhů hormonů a pesticidů [95].



Obrázek 6 Princip MIEXu

Chlorace

Chlorace se, se většinou používá pro úpravu pitné vody. Pro odstraňování xenobiotika z odpadních vod není vhodná z důvodů, že:

- 1) Některé produkty chlorace jsou toxické (např. estrogenní aktivita 4-chloro-17 α -ethynylestradiolu je obdobná jako u 17 α -ethynylestradiolu) [95].
- 2) V přítomnosti amonných iontů by, při použití chlornanu, chlór vytvářel organické chloraminy a nebyl by dostatečně účinný¹³. [96]
- 3) Ačkoliv je možné degradovat některé druhy polutantů pomocí chlóru, přínos těchto metod je zanedbatelný vzhledem rizikům spojených s možnými toxických dopadů vedlejších produktů [95; 97].

AOPs

Pokročilé oxidační procesy (Advanced oxidation process , AOPs) je soubor chemických a fyzikálních postupů čištění, jejichž cílem je odstranění organických a anorganických materiálů z vody pomocí oxidace.

Znečišťující látky se oxidují pomocí čtyř různých činidel: ozonu a peroxidu vodíku a kyslíku a vzduch, přičemž jsou do systému dodávány v naprogramovaných dávkách a kombinacích. Postupy se mohou také kombinovat s UV záření anebo jinými specifickými katalyzátory. Např. užitím Fentonova činidla aj.

Postup AOP je zvláště účinný pro čištění biologicky toxické nebo nerozložitelné materiály jako aromátů a pesticidy a ropnými složkami a těkavých organických látek v odpadních vodách. Princip metod je v tom, že kontaminující látky jsou převedeny do formy stabilních anorganických sloučenin, jako jsou voda, oxid uhličitý a soli, tzn. jsou mineralizovány. Cílem čištění odpadních vod pomocí AOP je snížení chemických kontaminantů a jejich toxicity na takovou úroveň, aby vyčištěná voda mohla být vypuštěna do recipientu, nebo alespoň na ČOV.

¹³ Účinek organických chloraminů během dezinfekce vod – v několika na sobě nezávislých studiích bylo zjištěno, že přítomnost organických chloraminů snižuje účinek dezinfekce [97; 162]

Tabulka 11 Typy pokročilých oxidačních metod (AOPs) zkoumaných v souvislosti s odstraňováním Xenobiotika z odpadních vod [33].

AOPs	Základní princip	Princip hlavní chemické reakce
O ₃ /UV	Fotolýza ozónu produkuje hydroxylové radikály (OH·). Vyšší pH podporuje vznik radikálů. Přítomnost peroxidu vodíku může zvýšit účinnost procesu.	$O_3 + hv + H_2O \rightarrow 2 OH\cdot + O_2$
O ₃ /H ₂ O ₂	V alkalických podmínkách vznikají volné hydroxylové radikály. Přítomnost peroxidu vede k zintenzivnění reakce (až 1000 krát). Procesy mohou být vylepšeny ozařováním UV světlem.	$O_3 + H_2O_2 \rightarrow 2 OH\cdot + 3 O_2$
UV/H ₂ O ₂	Přímá fotolýza peroxidu je štěpnou reakcí vazby mezi jeho dvěma atomy kyslíku.	$H_2O_2 + hv \rightarrow 2 OH\cdot$
Fentonova reakce	Látka obsahující dvojmocné železo je katalyzátorem vzniku radikálů. Účinnost procesu může být vylepšena UV zářením.	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH\cdot$
Fotokatalýza TiO ₂ /UV	Proces zahrnuje absorpci energeticky bohatého záření polovodičem a následný vznik elektronových děr a hydroxylových radikálů. Zlepšení účinnosti může být dosaženo přidáním oxidačních činidel jako je O ₃ , O ₂ nebo H ₂ O ₂ .	
Sonolýza (Ultrazvuková ní)	Ultrazvukování vody vede k cyklickému vzniku, růstu a následnému kolapsu dutinek, což se opakuje v extrémně krátkých časových intervalech. V těsné blízkosti zanikajících bublin se uvolňuje velké množství energie a vznikají zde reaktivní molekuly jako např. hydroxylové radikály. Přítomnost světla nebo peroxidu vodíku může zvýšit účinnost procesu.	

9.3 Metody biologické degradace – Metody s aktivovaným kalem

Konvenční čištění odpadních vod na ČOV ukazují poměrně nízkou efektivitu odbourávání látek xenobiotické povahy v odpadních vodách [95]. Nicméně bylo zaznamenáno, že jisté biologické procesy v kombinaci s adsorpcí na pevné částice kalu mohou u některých látek vést ke 45 až 99 % jejich odbourávání z odpadní vody. Velmi účinná se v tomto ohledu ukázala být nitrifikace, při níž docházelo k odbourávání steroidních estrogenů. Nicméně u konvenčního způsobu čištění můžeme konstatovat, že na různé látky má různé účinky např. u farmak ze skupiny analgetik je kyselina acetyl salicylová dobře degradovatelná nicméně diklofenak je proti konvenčnímu způsobu čištění zcela perzistentní.

Podle studie dle Suareze z roku 2008 [98] by měla být při optimalizaci stávajících konvenčních čistírenských procesů brána v úvahu následující zjištění:

- 1) Sloučeniny s vysokou biodegradační konstantou (K_{biol})¹⁴ a nízkým distribučním koeficientem sediment-voda (K_{oc}), jako je ibuprofen, by měly být dostatečně transformovány nezávisle na době zdržení kalu nebo době zdržení vody.
- 2) Sloučeniny s nízkým K_{biol} a vysokým K_{oc} , jako jsou mošusové látky, se zadržují v provzdušňovaných oblastech aktivace díky sorpci a jsou výrazně transformovány při dostatečném zdržení kalu.
- 3) Sloučeniny s nízkým K_{biol} a středními hodnotami K_{oc} , jako je estron a 17 β -estradiol, jsou mírně transformovány nezávisle na době zdržení kalu a mírně závisle na době zdržení vody.
- 4) Sloučeniny s nízkým K_{biol} a nízkým K_{oc} , jako je karbamazepin, nejsou ani biotransformovány ani odstraněny z odpadní vody bez ohledu na dobu zdržení kalu i vody.

9.4 Sorpční procesy

V současnosti se pro vylepšení biologických čistících procesů používají sorpční metody, které využívají jako sorbent aktivní uhlí, a to buď ve formě práškové Powder Activated Carbon (PAC) anebo granulované (GAC). V aktivní uhlí se ukázalo schopné sorbovat některé steroidní hormony nebo nonylfenolu naopak špatně odstraňuje kontrastní rentgenovou látku iopromid a léčiva ibuprofen, meprobamát, sulfamethoxazol a diklofenak.

Další zajímavostí je, že aktivní uhlí získané z korkové drti a plastových zbytků vykazovala v odstraňování ibuprofenu lepší sorpční potenciál než komerční sorbenty [99].

9.5 Bioremediace(fytoremediace)

Bioremediace je proces kdy za použití metabolismu mikroorganismů odstraňujeme znečišťující látky. Mikroorganismy používané k výkonu funkce bioremediace jsou známé jako bioremediatory. Slibným řešením v oblasti čištění odpadních vod je využití tzv. hub bílé plísně (white root fungi), která jsou schopny pomocí svého nespecifického enzymatického systému degradovat širokou škálu perzistentních látek včetně xenobiotik např. DDT, PCB, PAU a další. Nicméně zatím existuje jen velmi málo studií, která by prokázala účinky white root fungi v praxi. Tato metoda má však i svá omezení je citlivá na vysoké obsahy těžkých kovů, nízké teploty nebo na konkurenceschopnost jiných hub či bakterií. Druhy ověřené pro čištění odpadních vod jsou *Trametes versicolor*, *Irpes lacteum*, *Phanerochaete chrysosporium* a *Ganoderma lucidum* [100; 101].

¹⁴ Biodegradační konstanta K_{biol} – vyjadřuje kinetickou rychlost biodegradace dané látky v l na g pevné suspendované látky za den

Fytoremediace

Fytoremediace je proces, kdy pomocí rostlin (bylin, keřů a stromů) odstraňujeme znečišťující látky např. kovy, pesticidy, rozpouštědla, výbušniny, ropu a její deriváty, aj. tento proces se nazývá fytodegradace.

Fytodegradace podobně jako v případě hub bíle plísně využívá funkcí enzymatické systému rostlin, které se podílejí na akumulaci v tkáních. Jedná se o enzymy, jež disponují schopností transponovat vybrané látky zvyšovat jejich rozpustnost a konjugaci i rozpustnost. Enzymy působící v rámci fytodegradačních procesů jsou dehalogenasy, mono- a dio-xygenasy, peroxidasy, peroxygenasy, karboxylesterasy, laccasy, nitrilasy, fosfatasy a nitroreduktasy.

Fytoremediace je považována za ekonomickou efektivní a nerušivou technologii pro životní prostředí. Za posledních 20 let se tato technologie se stává stále více populární. Nicméně, její hlavní nevýhodou je, že proces je závislý na růst rostlin, tolerance k toxicitě a bioakumulační schopnosti rostlin

Fytoremediace je metoda, jež má mnoho modifikací podle prostředí, ve kterém je používána. Pro čištění odpadních vod je určena metoda tzv. Rhizofiltrace, kde je odpadní voda filtrována vody skrze kořeny rostlin. Znečišťující látky zůstávají absorbovány do tkání rostlin nebo jsou sorbovány na kořenech. Tato metodu je v praxi známá pod pojmem kořenové čistírny vod. [102]

9.6 Metody fyzikální degradace

Membránové technologie

Membránová filtrace je separace látek pomocí polymerické membrány, která funguje na principu polopropustné fyzikální bariéry s póry nebo molekulárními kanály. (Vstupující koncentrát se rozdělí na permeát (obsahuje látky, které projdou membránou) a retenát (obsahuje látky, které membrána zadržela). Membrány rozlišujeme na základě velikosti propouštěných látek, mechanismu zadržení, účastných hybných sil, chemické struktury a složení membrán či podle geometrie uspořádání. Nejdůležitějšími typy membránové filtrace jsou tlakem hnané procesy včetně mikrofiltrace (MF), ultrafiltrace (UF), nanofiltrace (NF) a reverzní osmózy (RO), [103]

Účinnost odstraňování pomocí membrán závisí na [104]:

- 1) Fyzikálně-chemických vlastností xenobiotik: molární hmotnost, rozpustnost ve vodě, K_{ov} , elektrostatické vlastnosti
- 2) Vlastnostech membrány, které ovlivňují rejekční mechanismus: rozdíl ve velikosti pórů, náboji a adsorpčních schopnostech částic
- 3) Vlastnostech vody: pH, iontová síla, koncentrace přírodních organických látek ve vodě

(Přítomnost bivalentních kationtů (vápenatých, hořečnatých) ve vodě snižuje v důsledku omezení asociace polutantů s přirozenou organickou hmotou zadržování xenobiotika).

Účinnost procesu stoupá v pořadí: MF < UF < NF < RO.

Xenobiotika jsou látky velikostně se pohybující mezi ng.l^{-1} až $\mu\text{g.l}^{-1}$ a proto jsou zachycovány spíše na NF, RO. Při ostatních procesech jsou zachycovány spíše díky hydrofobní interakci. Bylo prokázáno, že při odstraňování triklosanu pomocí dvou NF membrán (NF-270 a NF-90) a jedné RO membrány (BW-30) byl pouze v případě použití reverzní osmózy po 10 ti filtracích díky tenkosti a hustotě membrány nebyl triclosan v permeátu vůbec přítomen [105]. Účinnost zadržení xenobiotika pomocí komerčně dostupných NF může být údajně zlepšena chemickými modifikacemi [106]. Za nejúčinnější metody odstraňování endokrinních disruptorů v recyklaci odpadních vod se považuje nanofiltrace a reverzní osmóza. I za použití těchto metod však bylo vyzorováno, že některé látky mohou z membrány uniknout během odstraňování filtrového nánosu nebo při vysoké změně pH. Z tohoto důvodu je vhodné používat membránové procesy pouze k dočištění.

10 Závěr teoretické části

Jak již bylo popsáno v úvodu teoretické části, xenobiotika představují velmi širokou skupinu látek s nestejnorodými fyzikálně-chemickými vlastnostmi a rozdílnou mírou biodegradability. Jejich přítomnost v odpadních vodách je značně proměnlivá a závisí na mnoha dalších faktorech. Jedná se většinou o perzistentní látky, které odolávají konvenčním způsobům čištění OV a v některých případech pak při tomto způsobu čištění mohou dokonce vznikat toxické konjugáty, jež jsou pro životní prostředí často nebezpečnější než mateřské látky. V případě přítomnosti antibiotik v procesu biologického čištění OV navíc dochází ke zvýšení rizika bakteriální rezistence na antibiotika. Do budoucna lze tedy očekávat, že legislativa v tomto směru bude vyvíjet zvýšený tlak na provozovatele stokových sítí a ČOV, aby zajistili jejich dostatečné odbourávání. Předpokladem je, že eliminace xenobiotik bude požadována již přímo u samotného původce a terciální stupeň dočištění odpadních vod za účelem jejich odstranění z komunálních odpadních vod se brzy stane běžnou součástí ČOV. Výzkum a vývoj terciálního stupně dočištění v současné době přinesl mnoho nových metod a technologií, a z hlediska porovnání míry účinnosti a ekonomického aspektu se jako velmi slibné jeví bioremediační metody. Ty se dostávají do popředí zájmu také díky současnému společenskému trendu vývoje technologií inspirovaných přírodou. Dřevokazné houby a jejich aplikace jako bioremediátorů v těchto metodách prokázala vysokou efektivitu eliminace širokého spektra xenobiotik z různých složek životního prostředí. To potvrzují i výsledky praktické části méj dizertační práce v níž navržená bioremediační technologie, spočívající v imobilizaci mycelia *Trametes versicolor* na nosiče vyrobené 3D tiskem, která po přetestování v laboratorních podmínkách, je schopná eliminovat vybrané druhy léčiv z vodní matrice, a to i za hydrostatických podmínek bez provzdušňování. Ačkoliv jsou houby, a to především ty volně rostoucí, stále velmi neprobádanou sférou, jejich úspěšné testování pro medicínské, biotechnologické či dekontaminační účely odhaluje jejich velký potenciál, který do budoucna jistě přinese nové a nečekané objevy.

PRAKTICKÁ ČÁST

Úvod do praktické části dizertační práce

K vývoji bioremediační technologie využívající degradačního účinku bazidiomycet, v rámci méj dízertační práce, mne v roce 2013 přivedly především publikace prof. Šálka a prof. Tlapáka věnované čištění vod přírodními způsoby [107] a zahraniční studie z Universitat Autònoma de Barcelona zabývající se využitím hub bíle hniloby při odbourávání různých druhů EDC a PPCP z vody [100; 101].

Výsledkem bylo pokusit se vyvinout bioremediační zařízení na odbourávání xenobiotik z komunálních odpadních vod, jež bude jako bio eliminační medium (bioremediátor) využívat dřevokazných hub bíle hniloby a funkci takovéto technologie alespoň částečně ověřit v laboratorních podmínkách.

Prvním krokem bylo definovat základní parametry technologie a to:

- Predikovat optimální umístění z hlediska stupně čištění – tedy v případě, že by v budoucnu byla technologie využívána na čistírnách odpadních vod figurovala by zde jako závěrečný stupeň čištění tzv. terciální stupeň, tedy až za mechanicko-biologickou částí.
- Konstrukce technologického celku zařízení – byla navržena jako zkrápěný částečně ponořený průtočný biofiltr se separovanou napouštěcí a sběrnou nádrží včetně recirkulačního okruhu.
- Výběr inokulačního materiálu – mateřská houba bude odebírána přímo z přírody. Zahraniční autoři sice při testech používali subkultury získané ze sbírek kultur¹⁵, nicméně parazitické druhy hub disponují velmi rychlými reversibilními, populačně genetickými schopnostmi na základě, nichž jsou schopné rychle se přizpůsobovat lokálním klimatickým podmínkám, tvorbě prospěšných synergických vazeb s jinými organismy či ochranných mechanismů potřebných pro soupeření s konkurenčními parazitickými mikroorganismy (plísně, houby, bakterie). Dle tohoto předpokladu by mateřské houby z přírody mohly být více adaptabilní a v rámci budoucího aplikačního využití technologie méně subtilní než sbírkové kultury.

Technologii dále koncipovat tak, že se bude jednat o

- Levnou, jednoduchou, udržitelnou a ekonomicky nenáročnou technologii
- Fungující bez ohledu na klimatické změny
- Lehce obslužnou

¹⁵ Sbírkové kultury – jedná se o evidenci, která uchovává kultury mikroorganismů pro potřeby základního a aplikovaného výzkumu. Kultury mikroorganismů jsou zde dlouhodobě uchovávány různými způsoby např. kryoprezervací, na šikmém agaru, vysoušení kultur na nosičích apod. po desítky let.

Testování a veškeré práce spojené s vývojem této technologie byly prováděny na půdě výzkumného centra AdMaS v laboratořích výzkumné skupiny EGAR mnou osobně. Chemické analýzy vzorků prováděly na půdě Fakulty chemické Ing. Petra Suková, Ing. Tereza Švestková a Ing. Pavlína Landová z Ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí („ÚCHTOŽP“). Vzhledem k časové náročnosti zpracování vzorků a provádění jejich analýz i s přihlédnutím ke komplikacím vzniklým z důvodu složitosti matrice a silného matričního efektu u testů s metodou košů bylo dohodnuto, že si na tématu méj dizertační práce může kolegyně Ing. Petra Suková zpracovat diplomovou práci zaměřenou především na metody analýzy tohoto typu akvatických vzorků.

Práce na vývoji technologie probíhala v několika fázích, které se časově prolínaly:

- Fáze – Návrh technologie
 - Stanovení základního paradigma technologie na základě aplikace dřevokazných hub v problematice odbourávání xenobiotik z životního prostředí
 - Návrh konstrukčního uspořádání laboratorního modelu
 - Návrh nosného biofiltru
 - Substrátový biofiltr v koších
 - 3D kostky
- Fáze – Metodika inokulace a fruktifikace
 - Sběr vzorků
 - Inokulace a fruktifikace
- Fáze – Testování
 - Výběr testovaných xenobiotik – sulfonamidová antibiotika
 - Testování – substrátový biofiltr
 - Metodika testování biofiltr v koších
 - Vyhodnocení testu
 - Testování – 3D kostky
 - Návrh metodiky testování
 - Testování 3D kostek
 - Print screen test
 - Set-up testy
- Vyhodnocení testů
- Stanovení základních podmínek a parametrů aplikace technologie

Praktická část dizertační práce je sumariací celého průběhu vývoje bioremediační technologie včetně interpretace dosažených výsledků. Vzhledem k všeobecnému pojetí předchozí části jsem se rozhodla, že některé specifické teoretické pasáže, týkající se dřevokazných hub a jejich využití v čištění vod a detailnější rozbor sulfonamidových antibiotik použitých při testech, raději přesunu do praktické části.

1 FÁZE – Návrh technologie

1.1 Stanovení základního paradigma technologie na základě aplikace dřevokazných hub v problematice odbourávání xenobiotik z životního prostředí

Potenciál bioremediačních metod čištění odpadních vod není zcela doceněn. Pravděpodobně je to způsobeno jednak vžitou představou, že se jedná o poměrně prostorově náročné, a ne tolik efektivní způsoby čištění odpadních vod. Z hlediska klasického biologického znečištění se to tak jevit může, neboť klasické bioremediační metody jsou poněkud náročnější jednak na prostor, je potřebné navýšit dobu retence vody oproti běžným způsobům s aktivovaným kalem a jejich účinnost značně kolísá v závislosti na teplotních a podnebních podmínkách.

Současná aplikace bioremediačních metod se tedy přiklání spíše k možnosti využívat je jako terciálního stupně dočištění. Ačkoliv v odbourávání běžného biologického znečištění je jejich účinnost značně variabilní mnoho studií odhalilo, že naopak na rozdíl od konvenčních postupů vykazují poměrně dobrých výsledků v odbourávání látek xenobiotické povahy. I zde však je nutné přihlédnout k faktu, že vždy závisí na druhu použitého bioremediačního media například v případě vyšších rostlin je tato efektivita způsobena vysokým bioakumulačním potenciálem látek xenobiotické povahy vedoucí k tzv. biomagnifikaci prvního stupně, kdy látka není rozložena či transformována, ale pouze absorbována do tkání rostlin.

Houby a houbám podobné organismy jsou poměrně složitá biologická skupina. Například vůči běžným zástupcům rostlinné říše nemají plastidy¹⁶ a jim odpovídající struktury. Houby nedisponují asimilačním pigmentem (kromě lišejníku), což vede k heterotrofnímu způsobu výživy¹⁷. V mnohém se pak buňky hub podobají spíše buňkám živočišným, nežli rostlinným například produktem jejich metabolismu je polysacharid glykogen, v buňkách hub se nalézají lysozomy¹⁸ a i způsoby průběhu některých metabolických pochodů v buňkách jsou velmi podobné těm, jež se odehrávají v buňkách živočichů. Velké množství zástupců hub patří mezi parazity, neboť živiny získávají přímo z živých buněk rostlin (popřípadě z více či méně odumřelých tkání). V současné době je popsáno 65000-70000 druhů hub, přičemž se odhaduje že může existovat ještě 1,5 milionu prozatím neodhalených druhů [108]. Jen za rok 2017 bylo objeveno 2189 nových druhů hub [109].

Dřevokazné houby patří k parazitickým houbám z druhového oddělení bazidiomycet (stopkovýtrusné houby) a získávají svou energii z živých, či odumřelých těl dřevitých rostlin.

¹⁶ Plastid je eukaryotická semiautonomní organela přítomná v buňkách rostlin a některých dalších eukaryotických organismů (zejména různých řas). V typickém případě slouží k fotosyntéze a nazývají se chloroplasty. V mnohých případech však plastidy ztrácí tuto funkci a přizpůsobují se k funkcím jiným. Mohou pak sloužit jako zásobní organela nebo odpovídat za určité zabarvení buňky. Je obalen nejméně dvěma membránami a uvnitř té vnitřní se nachází stroma s thylakoidy. Plastid je dále typický obsahem tzv. plastidové DNA (pDNA) a má tak důležitý podíl na mimojaderné dědičnosti.

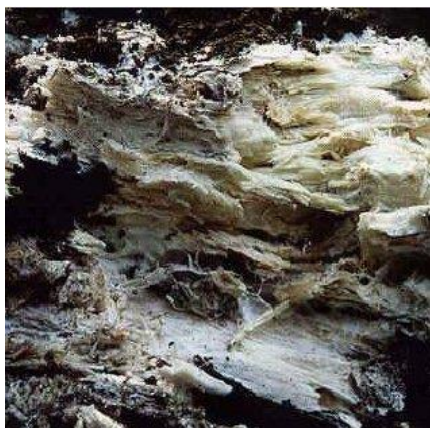
¹⁷ Heterotrofní výživa – zdrojem uhlíku jsou organické látky, které jsou současně i zdrojem energie. U rostlin disponujících asimilačním barvivem (autotrofní) je zdrojem uhlíku CO₂.

¹⁸ Lysozom je kulovitý membránový útvar sloužící k degradaci mnoha různých typů organických látek, jako jsou cukry, tuky, bílkoviny i nukleové kyseliny pocházejících z buňky i z jejího okolí.

Na základě typu barevného rozkladu dřeva dělíme dřevokazné houby na houby:

- Bílé hniloby
- Červené hniloby
- Hnědé hniloby

K širšímu využívání bazidiomycet dochází zhruba v 80 letech minulého století s rozvojem enzymologie, kdy se v papírenském průmyslu začali používat enzymy, zejména peroxidáza za účelem odstraňování barev v odpadních vodách z bělicích provozů [110; 111]. Postupně tento trend přestoupil i do dalších průmyslových odvětví za účelem odstraňování barviv z vody, neboť většina syntetických barviv odolává běžným biodegradačním procesům, což způsobovalo ve vypouštěných vodách značný estetický problém. V tehdejší době se musely používat drahé chemické nebo fyzikální postupy předtím, než byla voda vypuštěna do aerobního biologického ošetření. Navíc během anaerobních stupňů čištění pak často docházelo v případě tzv. azobarviv¹⁹ ke vzniku toxických aminů [112]. Od roku 1990 se tak mnohem intenzivněji začaly studovat možnosti využití ligninolytického enzymatického systému hub bílé hniloby za účelem degradace organických polutantů jako jsou polychlorované bifenyly, polyaromatické uhlovodíky, chlorfenoly a různé druhy syntetických barviv [113; 114; 115; 116]. V testech byla použita buď celá houbová kultura nebo vyrobené enzymové přípravky obsahující většinu nebo všechny extracelulární enzymy ligninolytického systému. Ve studiích z této doby bylo ověřeno hned několik druhů hub *Phanerochaete chrysosporium* [117], *Pycnoporus cinnabarinus* [118], *Pleurotus* sp. [119], *Trametes versicolor* [112] a *Bjerkandera adusta* [120], *Irpex lacteus*, *Ganoderma lucidum*. Později bylo zjištěno že významnou roli při rozkladných procesech hrají také enzymy intracelulárního systému (tj. Cytochromu P450).



Obrázek 7 Dřevokazné houby (zleva) *Phanerochaete chrysosporium* [107], *Trametes versicolor* [102]

¹⁹ Azobarviva jsou chemické sloučeniny obsahující funkční skupinu $R-N=N-R'$, kde R a R' je aryl např. methyloranž, azorubin. U mnoha z těchto látek již bylo prokázáno, že se jedná o vysoce karcinogenní látky.



Obrázek 8 Dřevokazné houby (zleva) *Pycnoporus cinnabarinus* [108], *Pleurotus* sp. [109]

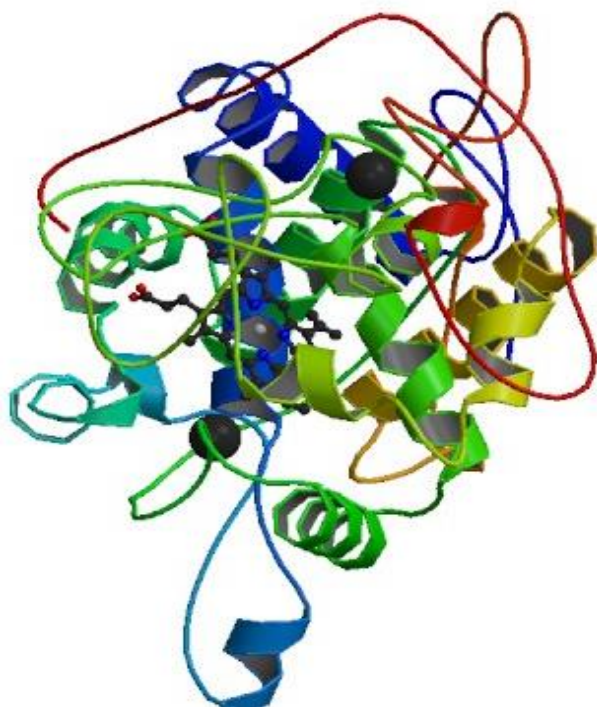


Obrázek 9 Dřevokazné houby (zleva) *Bjerkandera adusta* [110], *Ganoderma lucidum*

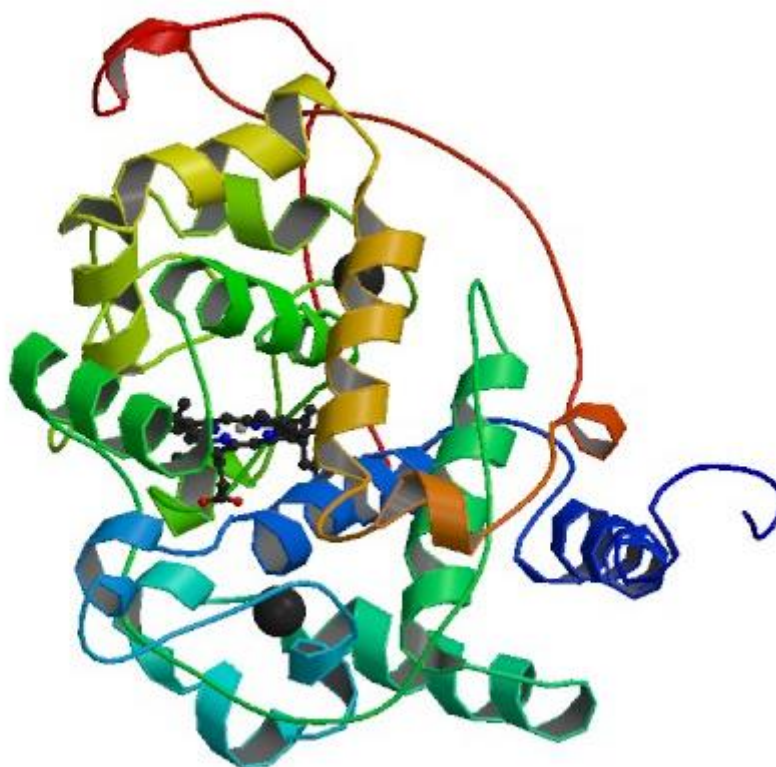
Schopnost bazidiomycet a převážně pak hub bílé hniloby degradovat širokou škálu látek spočívá v jejich nespecifickém ligninolytickém extracelulárním enzymatickém systému, který zahrnuje enzymy:

- manganovou peroxidázu (MnP)
- ligninovou peroxidázu (LiP),
- Pyranóza 2-oxidáza (VP)
- lakázu

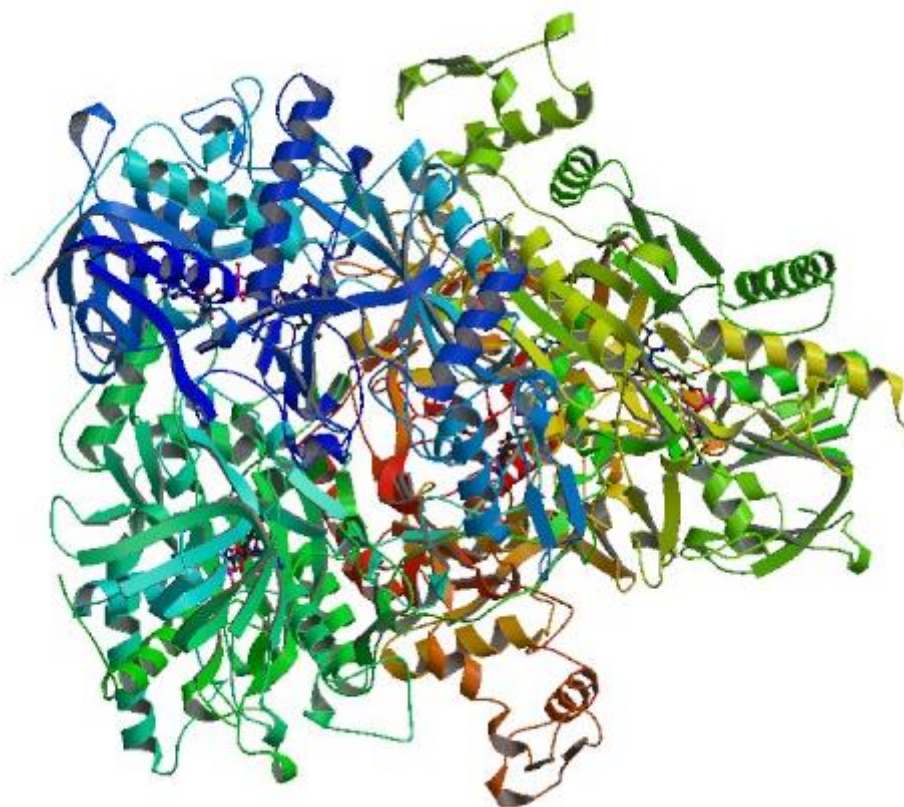
a také intracelulární enzymatické komplexy (cytochrom P450).



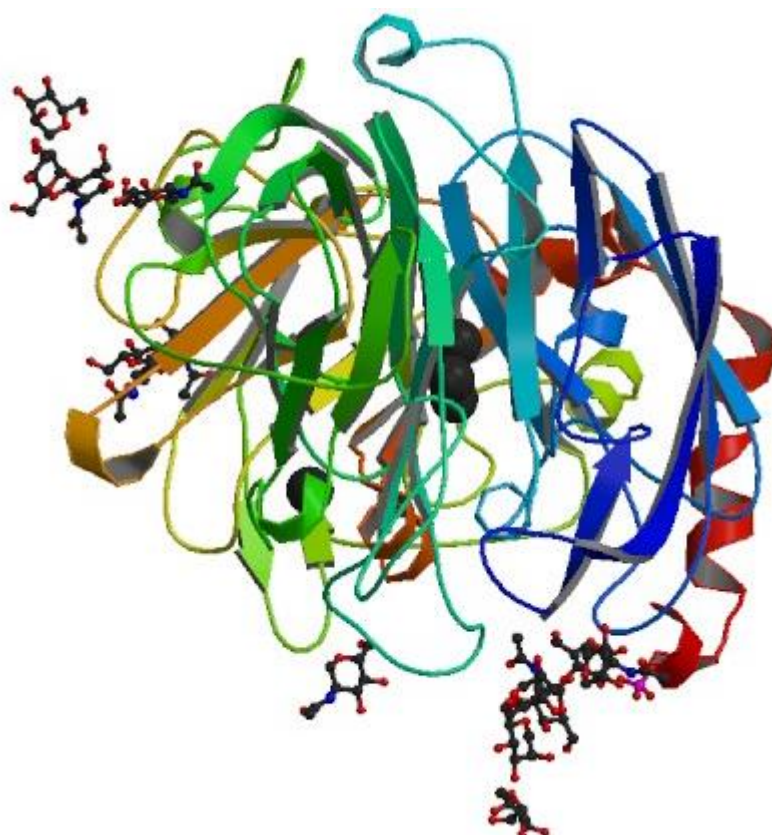
Obrázek 10 Ligninová Peroxidáza – *Phanerochaete chrysosporium* - [111]



Obrázek 11 Manganová peroxidáza – *Pleurotus ostreatus* [112]



Obrázek 12 Pyranóza 2-oxidáza z *Trametes multicolor* [113]



Obrázek 13 Původní houbová lakáza z *Trametes hirsuta* [114]



Obrázek 14 Základní struktura cytochromu P450 [115]

Na základě srovnávací studii [121; 122] provedené na různých zástupcích z řad hub bíle plísňě vychází, že mezi nejúčinnější dřevokazné houby patří prokazatelně *Trametes versicolor*.



Obrázek 15 *Trametes versicolor* (Outkovka pestrá) [118]

V současné době se testy s dřevokaznými houbami provádějí těmito metodami

- enzymatické metody – využití pouze jednotlivých enzymů, popř. jejich kombinací
- myceliární pelety a suspenze – výroba aktivovaných pelet či roztoků
- pěstování na nosičích – inokulace a fruktifikace nosných médií

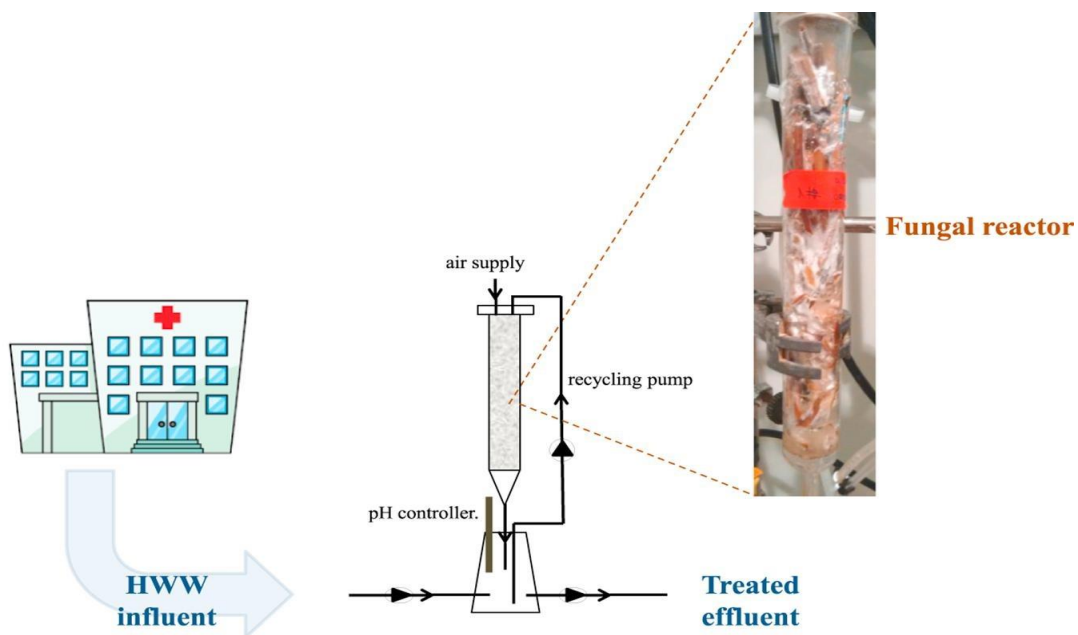
Enzymatické metody – při praktickém využití se používají enzymatické přípravky v nichž už jsou předem nadefinovány jednotlivé složení enzymů. Ty jsou následně vystaveny biokatalycké degradaci a to tak, že enzymy jsou imobilizovány na mediátor (jedná se často o přírodní sloučeniny, jako jsou například – kyselina kumarová (PCA), syringaldehyd (SYR) a acetosyringon (ACE)) samotná biokatalytická reakce probíhá v reaktorech. Většina těchto metod umožňuje opakované použití nejedná se však o živé organismy, ale pouze o jednotlivé enzymy.

Myceliární pelety a suspenze jedná se o velmi často užívanou metodu, která byla objevena v roce 1978 a je používána například v papírenském nebo textilním průmyslu při úpravě vod obsahující syntetická barviva. Výroba myceliárních pelet spočívá v inokulaci zátek ze sladu agar (2 %), které jsou vloženy do 500 ml Erlenmeyerových baněk, obsahující 150 ml média se sladovým extraktem (2 %). Baňky jsou poté umístěny v orbitální třepačce (135 ot / min, $r = 25$ mm) při 25 ° C. Po 4-5 dnech dochází ke vzniku husté myceliové hmoty, která se rozele homogenizátorem. Výsledná myceliová suspenze se uchovává ve sterilovaném fyziologickém roztoku (0,85 % NaCl) při 4 ° C.

Tato suspenze je pak použita přímo k získání pelet, a to tak, že 1 ml suspenze je inokulováno 250 ml média ze sladového extraktu (2 %) (upraveného na pH 4,5) v 1 l Erlenmeyerovy baňky. Baňka je dále inkubována v orbitální třepačce (135 rpm, $r = 25$ mm) při 25 ° C po dobu 5-6 dnů. Takto vzniknou pelety, které je možné skladovat ve sterilizovaném fyziologickém roztoku (0,85 % NaCl) při 4 ° C, kde zůstanou aktivní bez ztráty morfologie po dobu maximálně 2 měsíců [123]. V laboratorních testech se pelety používají v menších testech přímo v Erlenmeyerových baňkách nebo při objemově větších testech jsou používány provzdušňované bioreaktory jako například na obrázku 16.

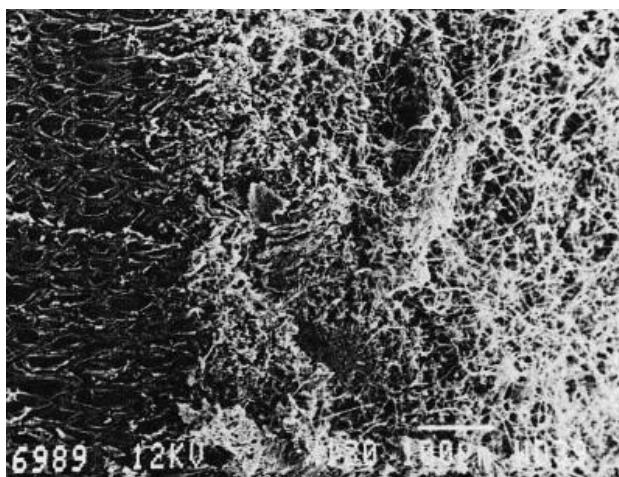


Obrázek 16 Skleněný fluidizovaný bioreaktor o objemu 1500 ml s myceliárními peletami- [120]



Obrázek 17 Použití paletového dřeva jako pevného nosiče v provzdušňovaném reaktoru testovaném na nemocničních odpadních vodách [121]

Imobilizace na pevných nosičích – Další možností je napěstovat si myceliární formu imobilizovaně na pevných nosičích. Jako nosič kultury byly doposud otestovány kostry lufy, zeolity, dřevní štěpka, drcené skořápky ořechů, kukuřičné listy a nasekané paletové dřevo [124; 125].

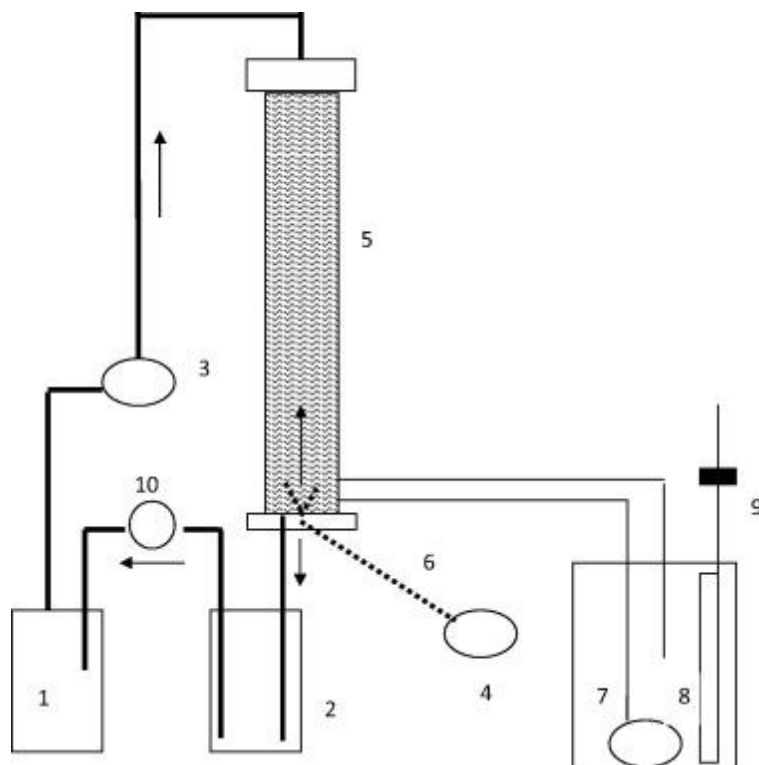


Obrázek 18 Dřevní štěpka kolonizovaná myceliem *Phanerochaete chrysosporium* BKM^F1767 (ATCC 24725), *Trametes versicolor* (PPRI 3845) a *Lentinula edodes* (PPRI 5769) [125]

Klíčovým problémem v praxi při aplikaci technologie používajících hub bílé hniloby je navrhnout a vytvořit vhodný reaktor, kde by mohla být technologie udržitelně provozována. V zahraničí existují různé prototypové konfigurace úspěšně aplikované při odbourávání xenobiotik v odpadních vodách:

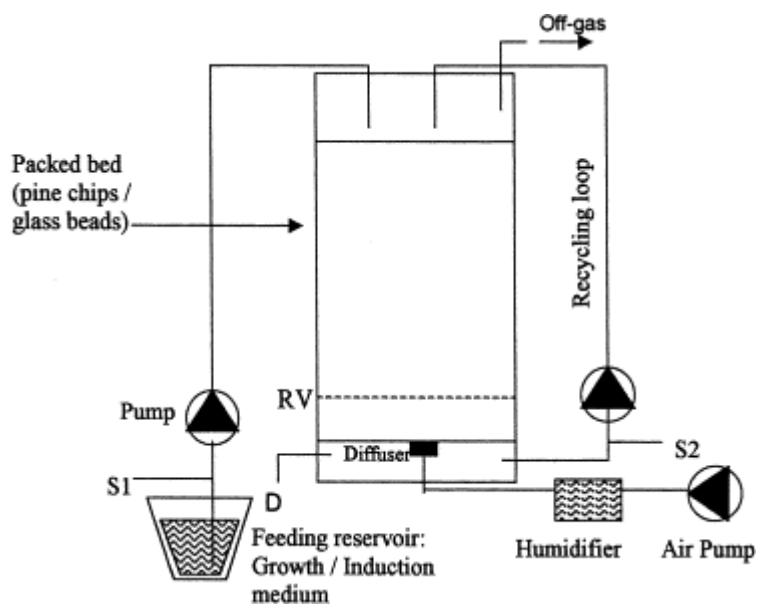
- reaktor s míchanou nádrží [126] - pracující za nepřetržitého přívodu vzduchu nebo periodického pulzování kyslíku
- provzdušňovaný reaktor, [127]
- reaktor s bublinkovými sloupci [128]
- reaktor s fluidním ložem [129; 130; 131]
- provzdušňovaný bioreaktor s plným ložem, [132]
- protiproudý průsakový bioreaktor [125]
- v kombinaci s MBR [133]

Současný zahraniční výzkum se zaměřuje převážně na testování bioreaktoru s fluidním ložem s pulzním vzduchem a bioreaktoru s protiproudovým průsakem. U obou těchto technologií se však po čase začal projevovat výrazný pokles v účinnosti při kontinuálním provozu za nesterilních podmínek, zejména při testování s reálnými matricemi vzorků odpadních vod bez předúpravy na ČOV. Toto zhoršování výkonu je zpravidla způsobeno nadměrným růstem bakterií, které inhibují růst hub a produkci enzymů [70]. Tento jev pak byl pozorován výrazněji u technologií pracujících s myceliární formou bazidiomycet naopak technologie využívající ligninocelulozní nosiče je schopná této bakteriální inhibici alespoň částečně vzdorovat. Dále bylo prokázáno, že u reaktorů pracujících v ponořeném režimu už po 14 dnech dochází k poklesu účinnosti až o 20 % naopak u průsakových reaktorů a MBR k tomu nedochází.

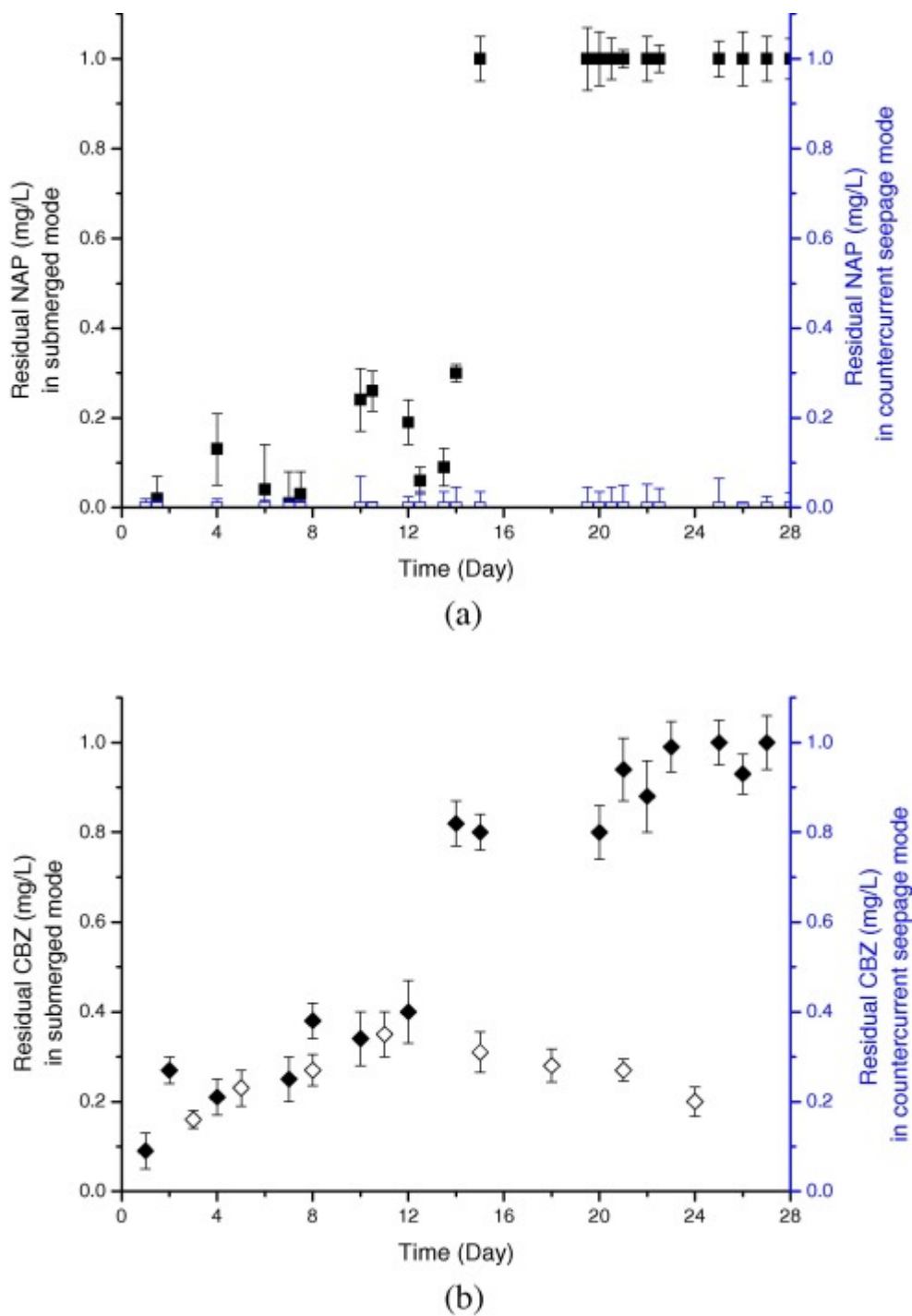


Obrázek 19 Schéma protiproudého průsakového bioreaktoru [122]

..



Obrázek 20 Schématický diagram provzdušňovaného bioreaktoru s plným ložem. S1 a S2, vzorkovací místa 1 and 2; D, odtok; RV, recirkulační objem. [123]



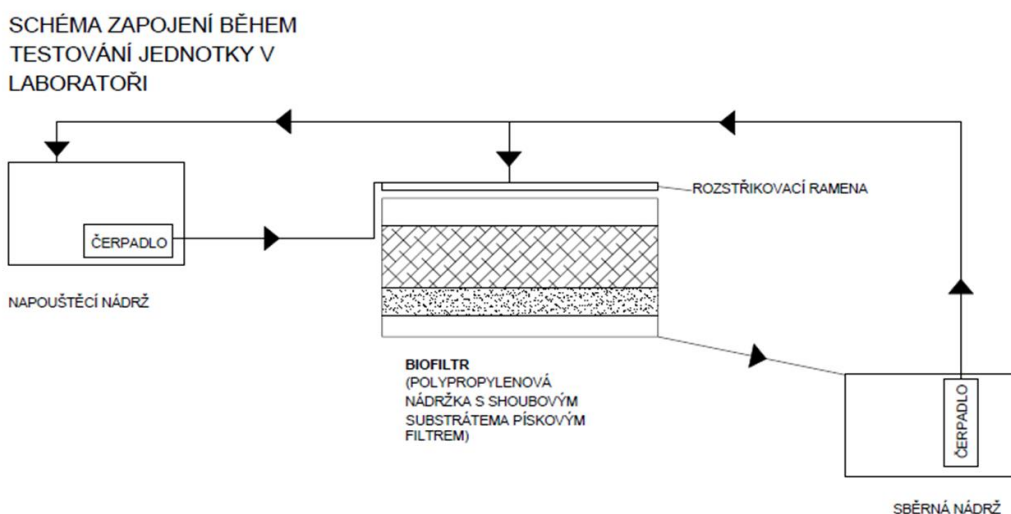
Obrázek 21 Srovnání odstranění naproxenu (a) a karbamazepinu (b) mezi reaktorem v protisměrném průsaku (-□-; -◇-) a ponořeným modelem (-■-; -◆-) během prvních čtyř týdnů

Po prostudování současného stavu poznání jsem se rozhodla, že základní paradigma technologie a podmínek jejího testování bude stanoveno následovně:

- Pro inokulaci jsem vybrala druh *Trametes versicolor*, neboť vykazovala nejširší variabilitu v uplatnění na různé typy mikropolutantů, popř. bude nakombinována i s jiným druhem dřevokazné houby.
- Mateřské plodnice budu odebírat přímo z volné přírody. Nejedná o ohrožený druh či jinak chráněný druh a jejich volný sběr je na území ČR povolen
- Mycelium bude pěstována na nosičích – jejichž základní materiálové složení bude vycházet z dostačujícího obsahu ligninu a celulózy. Cílem bude vytvořit udržitelnou formu nosiče.
- Během testování budu pracovat s modelovými vodami a v případě reálných matric budu odebírat vzorky na odtoku z ČOV, abych předešla případnému snížení účinku vlivem bakteriální inhibice.
- Zařízení bude fungovat jako shora zkrápěné s cyklickým provozem s tím, že nosiče budou částečně ponořeny. Předpokladem je, že se voda bude v oblasti nosičů po nějakou dobu zdržovat a až poté znovu dojde k dalšímu cyklu zkrápění
- Testování bude probíhat v laboratorních podmínkách a tomu bude uzpůsobena i velikost modelu

1.2 Návrh konstrukčního uspořádání laboratorního modelu

Konstrukční uspořádání laboratorního modelu vychází ze základního paradigma technologie. Stěžejním komponentem zařízení je bioreaktor (bioreakční nádrž), ve které bude docházet ke styku testované vody s napěstovaným myceliem. Skládá se z nádrže bioreaktoru a vnitřní nosné náplně (biofiltrační náplně) umístěné ve vyjímatelném koši. Koš je v nádrži zavěšen pomocí háků a je volně vyjímatelný za účelem lepší vizuální kontroly nosné náplně. Voda je do bioreakční nádrže čerpána z napouštěcí nádrže skrze rozstřikovací ramena. Bioreakční nádrž je ve spodní straně opatřena uzavíracím výtokem ústícím do sběrné nádrže.



Obrázek 22 Základní schéma technologického celku sestaveného v laboratoři AdMaS

Na základě výše uvedeného bylo zařízení sestaveno následujícím způsobem:

- Bioreakční nádrž byla vytvořena z polypropylenové zahradní nádrže na dešťovou vodu o objemu 240 l rozměru zelené barvy opatřené u dna vypouštěcím kohoutem. Pro potřeby testování byly pořízeny 3 dešťové nádrže, dvě o rozměru 600 x 500 x 800 mm a jedna o rozměru 600 x 500 x 750 mm. Nádrže byly dodatečně upraveny pro potřeby testování u jedné z nádrží musel být dodatečně zamontován odtok. Do bočních stěn nádrží byly přimontovány PE háky pro uchycení hadic skrápěcích ramen.
- Koše pro uložení biofiltračních nosičů jsou stohovatelné a zároveň zasouvací pekařské přepravky z materiálu HDPE o rozměrech 500 x 400 mm a v. 30 cm, a nosnosti 50 kg bílé barvy.



Obrázek 23 Vnitřní koš z HDPE o rozměrech 500 x 400 x 300 mm

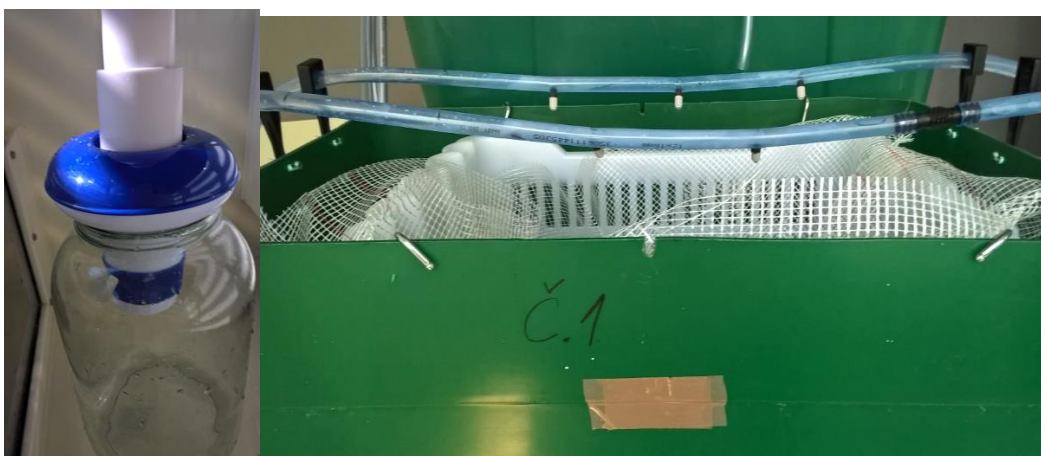
Skrápěcí ramena byla vytvořena pomocí PVC hadičky bez tlakového opletu o vnitřním průměru 5 mm určené k beztlakové dopravě vzduchu, vody, vodného roztoku čpavku či močoviny. Díky jejich čirému provedení je možné v případě potřeby včas odhalit znečištění systému. Skrápěcí ramena byla u nádrže č. 1 umístěna ve dvou souběžných řadách, přičemž na každé řadě byly osazeny 3 skrápěcí trysky. Nad nádrží č. 2 a č. 3 byly umístěny pouze dvě řady ramen. Jako skrápěcí trysky byly použité GARDENA Mds-rozprašovací tryska 180° a 360° o vnitřním průměru 3 mm. Skrápěcí ramena byla na konci uchycení spojena a uzavřena klipssem.

Jako napouštěcí nádrž měla být původně použita velká polypropylenová nádrž o objemu 500 l, jež by byla napojena na všechny bioreakční nádrže. Nicméně pro zajištění přesného měření a dostatečné hygienizace vstupních vzorku vody byla jako napouštěcí nádrž použita nerezová kruhová nádoba o objemu 6 l. Z nerezové nádrže vodu do systému vháněla malá akvarijní čerpadla typu Sunsun HJ-11 s max. výkonem 200 l/h u nichž je možná alespoň částečná regulace proudění vody.

Jako sběrná nádrž byla využita velká skleněná zavařovací láhev o objemu 5 l na vtoku opatřená pískovým filtrem. Pískový filtr byl vyroben přetvořením dávkovače na chlorovací tablety do bazénu. Do filtrační náplně byl použit křemenný filtrační písek o zrnitosti 0,6 - 1,2 mm a spodní část filtru tvořila akvaristická filtrační vata ze syntetických vláken od firmy Juwel. Skleněná láhev byla zvolena jednak kvůli zabezpečení sterility výstupu při opakovaných testech a pro lepší vizuální kontrolu vzorku.



Obrázek 24 Laboratorní model zkonstruovaný pro potřeby projektu



Obrázek 25 Pískový filtr na odtoku z biofiltrační nádrže a detail skrápěcích ramen na nádrži č. 1

1.3 Návrh nosného biofiltru

Bioreaktor je prostorem, kde v zařízení bude docházet k degradačním procesům. Nejvýznamnější v účinnosti celého zařízení je samozřejmě samotný biofiltr obsahující imobilizované mycelium. V rámci projektu byly vyvinuty dva typy nosných biofiltrů, jeden ve formě substrátu skládajícího se z materiálu obsahující vysoký podíl celulózy a druhý z pevných kostek vyrobených 3D tiskem z biologicky odbouratelného materiálu na bázi dřeva. Každý z materiálů má svá specifika a prošel jiným typem zátěžových testů. Bohužel účinnost substrátového filtru by sice z teoretického hlediska měla být funkční nicméně výstupní matrice vzorku byla natolik komplikovaná, že ji detekční přístroje nebyly schopny vyhodnotit. Což bylo pravděpodobně způsobeno vysokým podílem organické hmoty. Z tohoto důvodu se později přistoupilo k použití nosiče ve formě kostek.

1.3.1 Substrátový biofiltr v koších

Návrh substrátového filtru vycházel z předpokladu a zkušeností zahraničních výzkumů [125; 134]. Substrátový biofiltr je složen z několika materiálů obsahujícího vysoký podíl celulózy. Pro zdařilou inokulaci je optimální složení této hmoty:

- Tvrdá lepenka
- Piliny
- Dřevná štěpka
- Papírová plata od vajec
- Čedičová vata – ve formě hydroponických kostek

Substrát je v rámci zařízení uložen ve vyjímatelných koších, které jsou ve spodní části dodatečně v několika místech perforovány. Koše jsou zevnitř vyloženy sítkou na zednickou perlinku jednak z důvodu jednodušší manipulace v případě výměny filtru také pro snížení odplavování substrátu do volného prostoru nádrže bioreaktoru.

K inokulaci filtru docházelo až po měsíci důkladného zapěstování mateřské houby v očkovacím kultivátoru. Před inokulací byl substrát samotného koše řádně zvážen a vložen do prostoru koše. Týden před inokulací byl celý substrát důkladně svlažován kohoutkovou vodou po 3 cyklech v objemu 4 l. Svlažování proběhlo 3 x za týden před samotnou inokulací.

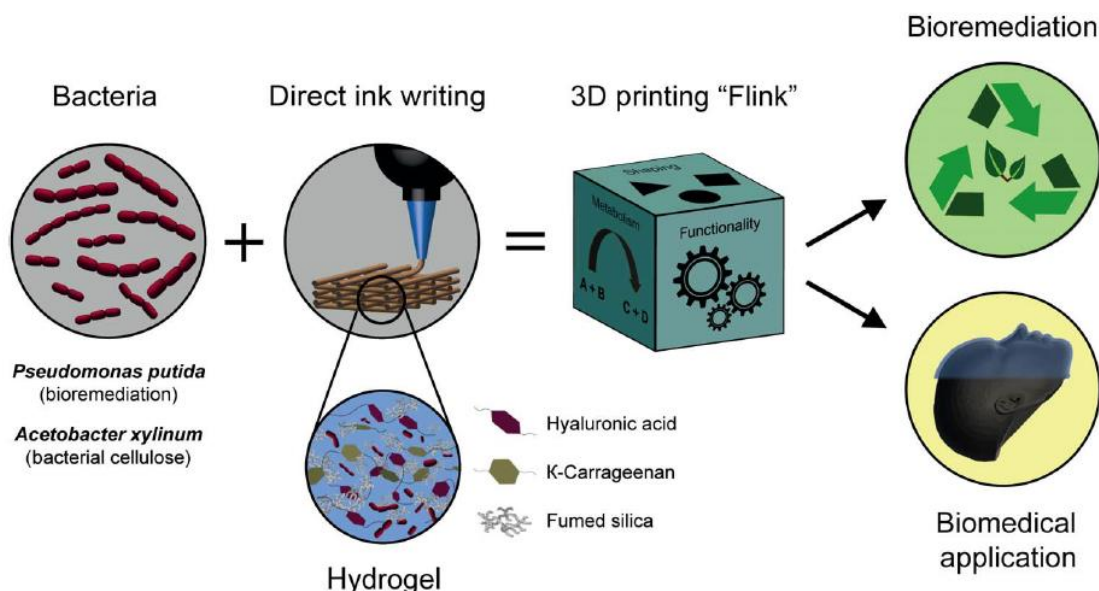


Obrázek 26 (zleva) Detail substrátu v koši vystlaného perlinkou a koš naplněný substrátem po skrápěcím cyklu

1.3.2 3D kostky

Jak již bylo uvedeno výše během testování bylo zjištěno, že substrátový filtr sice pravděpodobně účinný v odbourávání xenobiotik je, ale matrice jeho výstupního vzorku byla natolik složitá, že výsledky nebylo možné věrohodně interpretovat. Příliš silný podíl organických složek zapříčinil, že během chemické analýzy na spektrometru došlo ke zkreslení vlivem matričního efektu, proto bylo přistoupeno k návrhu jiného vhodného nosného materiálu.

Inspiroval mne k tomu společný projekt vědců z ETH Zürich z katedry materiálového inženýrství a School of Mechanical and Materials Engineering, University College Dublin, v Irsku. Ti se za pomoci 3D tisku pokoušejí zabudovat bakterie do kompaktních materiálů například do hydrogelových mřížek na bázi kyseliny hyaluronové, K-karagenanu²⁰ a oxidu křemičitého [135]. Očekávají, že by tuto technologii do budoucna mohli využívat v biomedicínských aplikacích či pro bioremediační účely (obr 26).



Obrázek 27 Vývoj nových hydrogelů se zabudovanými bakteriemi [132]

Na základě poznatků získaných z tohoto projektu jsem se rozhodla vytvořit nosný biofiltr vytvořený 3D tiskem.

Základem bylo nalézt vhodný typ struny pro růst mycelia.

Z dostupných materiálu jsem pro selekci struny zvolila:

- Strunu z PLA²¹ vláken s příměsí dřevní hmoty do 20%
- Strunu pouze z PLA vláken
- Strunu z ABS²²

²⁰ Karagenan - sulfátový polysacharid, který se získává extrakcí z červených mořských řas, nejčastěji z puchratky kadeřavé. Jedná se o látku příbuznou agaru a je alternativou k živočišné želatině. Používá se na především k zahuštění a stabilizaci.

²¹ PLA vlákno – je biologicky rozložitelné polyesterový vlákno vyrobené z rostlinného škrobu. V 3D tisku se nejčastěji pod pojmem PLA vlákno užívají vlákna kukuřice, cukrová třtina nebo brambory.

²² ABS – termoplast na bázi oleje, materiál hojně používaný při 3D tisku

Z každé struny jsem odebrala vzorek o délce 10 cm a společně s 2 g vzorku mateřské plodnice *Trametes versicolor* uložila do 500 ml kádinek a ke každému vzorku přidala 15 ml kohoutkové vody. Kádinky byly opatřeny prodyšným překryvem a uloženy do temna při pokojové teplotě.

Po 10 dnech po vizuální stránce se u obou vzorku s PLA projevil nárůst mycelia. V případě PLA s příměsí dřevní hmoty byl nárůst o poznání větší. U ABS struny nedošlo k žádnému pozorování nárůstu myceliární hmoty.

Na základě selekčního testů strun jsem se rozhodla použít struny s co nejvyšším obsahem celulózy, jakou je možné na současném trhu sehnat. Na základě doporučení mi pak byla nabídnuta struna z materiálu Timberfill od firmy Fillamentum s obsahem dřevní hmoty až 30 %. Dodatečné růstové testy na této struně se ukázaly být jako velmi slibné.



Obrázek (zleva) Struna Timberfill na vinutá na kotouči, na 3D tiskárně ORIGINAL PRUSA i3 MK2



Obrázek 28 Obrázek detail hlavičky 3D tiskárny ORIGINAL PRUSA i3 MK2 při tisku 3D kostek

Návrh 3D designu filtru byl koncipován do tvaru perforovaných kostek o velikosti hrany 25 x 25 x 15 mm. Po stranách jsou kostky opatřeny žebrováním, tak aby bylo možné je spojovat do kompaktního plátu. Každá z kostek má vnitřní mřížku. Proporce kostek byly navrženy na bázi parametrických vlastností lufy. Vysušený plod rostliny lufa byl užít při testování tvorby mycelia a vykazoval poměrně velkou úspěšnost při růstu mycelia [134]. Parametrické vlastnosti lufy a její fyzikální vlastnosti jsou velmi podrobně prozkoumány [136] parametry pro 3D kostky jsou odvozeny z testů, kde lufa figurovala jako bioremediátor.



Obrázek 29 Vysušený plod rostliny *Luffa cylindrica* [123,136]

Výpočet a návrh nosiče:

Výpočet kostky vychází ze studie odbourávání nitrofenolu, kde byl jako nosič použit vysušený skelet rostliny *Luffa cylindrica*.

Použité kousky lufy při testech s nitrofenoly měly rozměr 15 x 25 x 15 mm a pro test bylo použito 5 kousků. Houba byla napěstována za 19 dnů prů promíchávání za pomoci TJM roztoku rajčatové šťávy a destilované vody v Erlenmeyerových baňkách o objemu 500 ml, přičemž objem média činil 200 ml. Účinnost byla po 4 dnech dosaženo 95-98,4 % [134].

Lufa má tzv. hierarchickou strukturu na základě níž je možné rozlišit 3 hustotní úrovně [137]:

Hustota celého sloupce 25-65 kg/m³

Hustota stěn 350-680 kg/m³

Buněčná vlákna 820-920 kg/m³

Pro výpočet nebude uvažováno s hustotou pro celý sloupec, neboť kousky byly nařezány pouze ze stěn:

Dle vzorce pro hustotu která je definována jako podíl hmotnosti m a objemu V tělesa

$$\rho = \frac{\Delta m}{\Delta V}$$

(4)

Z toho můžeme vyjádřit, že pro výpočet hustoty Luffy platí

$$\rho_l = \frac{m_l}{V_l} \quad (5)$$

ρ_l – hustota luffy ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)

m_l – hmotnost luffy (kg)

V_l – objem vzorku luffy (m^3)

Pak můžeme vyjádřit, že celkový objem 5 kostek luffy V_l ve vzorku objemu 200 ml pro $E = 95-98,4 \%$

$$V_l = 5 \cdot (15 \cdot 25 \cdot 15) = 28125 \text{ mm}^3 = 2,8125e^{-5} \quad (6)$$

Při uvažované horní hranici pro hodnotu $\rho_l = 920 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ platí,

$$m_l = \rho_l \cdot V_l = 680. 2,8125 e^{-5} = 0,019125 \text{ kg} = 19,125 \text{ g}$$

Skutečný objem V_{sk} dopočítáme na základě hierarchického uspořádání struktur a výše uvedené hodnotě hustoty buněčných vláken platí

Při uvažované hustotě buněčného vlákna $\rho_l = 920 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ platí,

$$V_{sk} = \frac{m_l}{\rho_{lb}} = \frac{0,019125}{920} = 2,078 e^{-5} \text{ m}^3 \quad (7)$$

Celkový objem pórů V_p

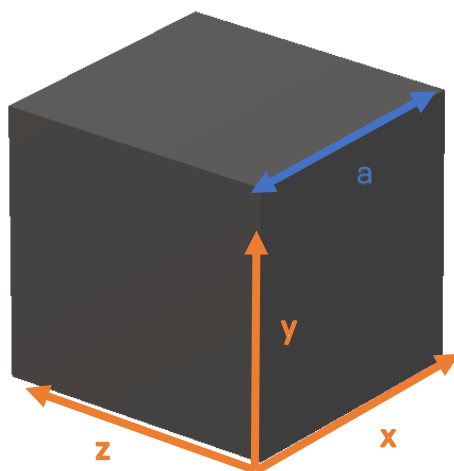
$$V_p = V_l - V_{sk} = 2,8125e^{-5} - 2,078e^{-5} = 7,3369 e^{-6} \text{ m}^3 \quad (8)$$

Pak platí že číslo pórovitosti e_l luffy je

$$e_l = \frac{V_p}{V_l} = \frac{7,3369e^{-5}}{2,8125e^{-5}} = 0,2608 \quad (9)$$

Návrh kostky:

Pro výrobu kostky bylo použito vlákno Timberfill s hustotou $\rho_{Ti} = 1,26 \text{ g.m}^{-3} = 1260 \text{ kg.m}^{-3}$



Obrázek 30 Návrhové parametry kostky

Když platí, že hrana $a=b=c$ pak objem volného prostoru $V_{0kostky}$ v kostce je

$$V_{0kostky} = a^3 \cdot e_l \quad (10)$$

Váha jedné kostky m_{kostky} kostky bude

$$m_{kostky} = \rho_{Ti} \cdot (a^3 - V_{0kostky}) = 1260 \cdot (1,56e^{-5} - 1,18e^{-5}) \approx 4,7 \text{ g} \quad (11)$$

Jeli hierarchie mřížky kostky uspořádána jako pravidelný vertikální soubor stěn o šířce t_n s křížením v ose x, z, a jestliže platí, že počet stěn n

$$n_x = n_z = n$$

pak můžeme n vyjádřit jako

$$n = \frac{V_{skK} + t_n^2}{2a^2 t_n} \quad (12)$$

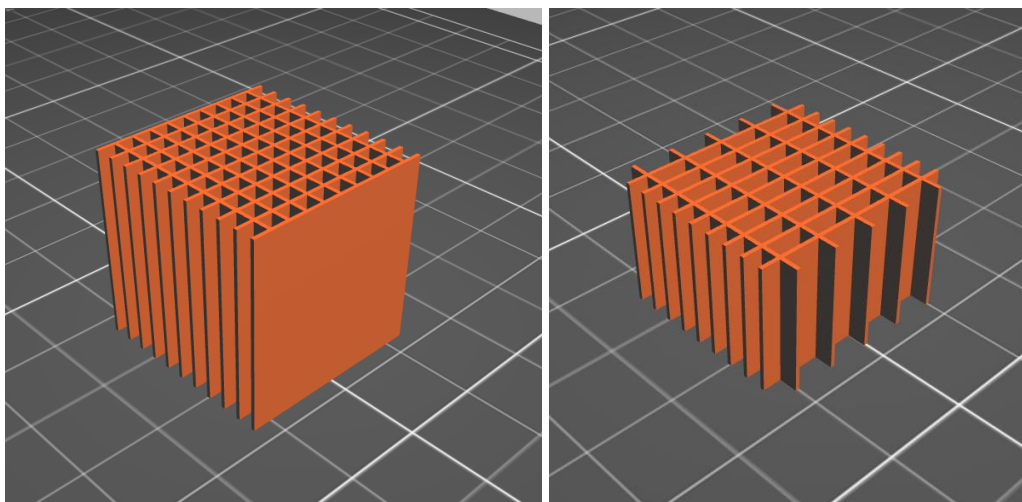
kden – počet stěn

V_{skK} – celkový objem kostky (včetně volného prostoru)

a – hrana kostky

t_n – šířka stěny

při $t_n=1 \text{ mm}$; $a= 25 \text{ mm}$ platí $n=9,24$ z konstrukčního hlediska byl poměr stran zvolen $n_x = 8$, $n_z= 10$



Obrázek 31 (zleva) Návrh kostky o rozměrech 25 x 25 x 25 mm; Návrh kostky o rozměrech 25 x 25 x 15 mm zobrazeno v programu PrusaControl 09.4_415 beta

Počet kostiček na vzorek o objemu 250 ml

Pórovitost pro Luffu Cylindrica se pohybuje v rozmezí 75-93 % celkového objemu

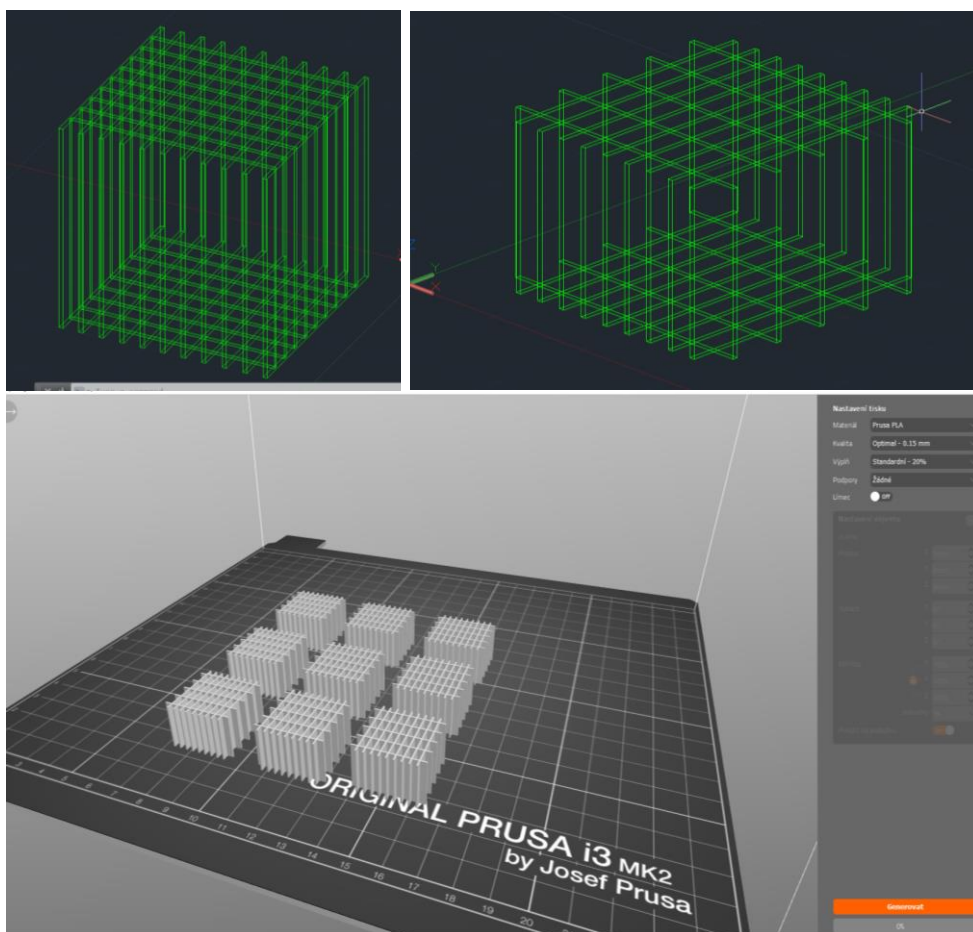
Pro velikost dílku Luffy 25 x 15 x 15 mm platí, že celkový objem pórů jednoho dílku činí $V_{pd} = 5,231e^{-6}$.

Dle výše uvedeného testování bylo účinnost odbourávání na úroveň 95 % dosaženo ve 200 ml při 5 dílcích s celkovým objemem pórů $3,26953 e^{-05} m^3$.

Pro kostku s parametry $a=25$ mm, $t_n=1$ mm, $n_x = 8$, $n_z= 10$ s přesahem žebířů v ose z o 1 mm v obou směrech, jejíž celkový objem prostoru vnitřní mřížky včetně vnějších žebířů činí $4505 mm^3$.

Pro vzorek o objemu 250 ml bude potřeba $3,10 = 3$ ks kostek.

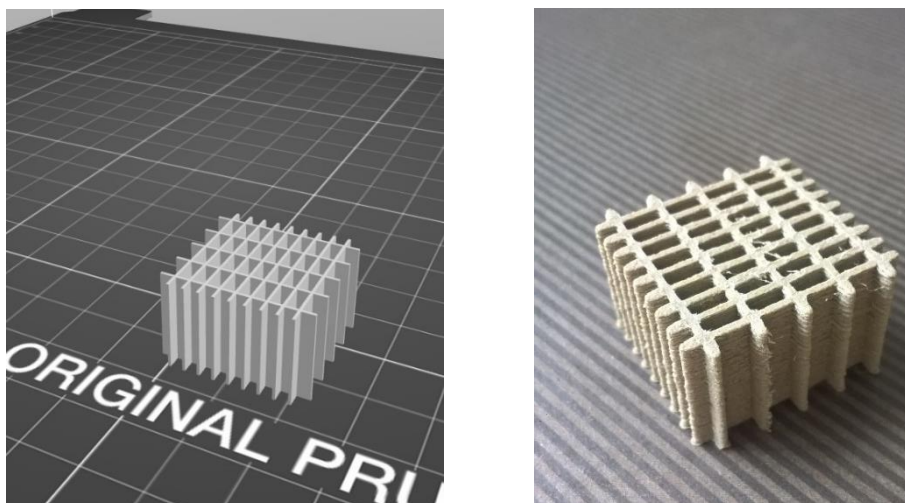
Návrhy kostek byly zpracovány v programu Autodesk AutoCAD 2018. Převod do G-code bylo provedeno v programu PrusaControl 09.4_415 beta.



Obrázek 32 (shora) Návrhy kostek v programu Autodesk AutoCAD 2018, Nastavení tisku v programu PrusaControl

Během tisku kostek o rozměrech 25 x 25 x 25 mm docházelo často ke komplikacím s lámáním struny Timberfill či k nekompaktnímu navázání vrstev proto byly parametry kostky upraveny na rozměry 25 x 25 x 15 mm. Počet kostek na vzorek pak vycházel $4,93 = 5$ ks.

Kostky se tiskly na 3D tiskárně ORIGINAL PRUSA i3 MK2 ze struny Timberfill ®Ø 1,75 mm barvy Champagne od firmy Fillamentum. Tisk probíhal při pracovní teplotou 170–185 °C od firmy Fillamentum. Materiál struny je velmi křehký a během tisku často docházelo k přehřátí a přelomení struny, aby se předešlo zbytečnému přehřívání bylo tištěno současně maximálně 9 ks. Kvalita tisku byla navolena v režimu optimal a hustota tisku nastavena na 20 %.

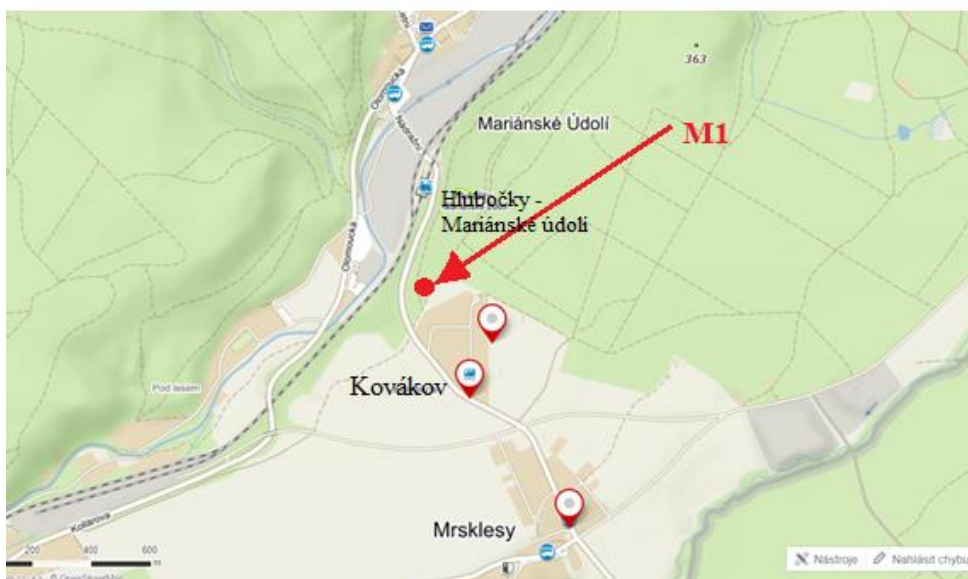


Obrázek 33 Grafická vizualizace kostek před tiskem v programu PrusaControl, detail kostky v programu PrusaControl, vytištěná 3D kostka (zleva)

2 FÁZE – Metodika inokulace a fruktifikace

2.1 Sběr vzorků

Jedno z kritérií pro aplikaci technologie byl odběr vzorků z mateřských plodnic přímo z přírodního prostředí. Zatím to účelem jsem tedy vytipovala několik lokalit, jež se jevily jako vhodné, neboť se zde druh *Trametes versicolor* vyskytoval ve vyváženém poměru vůči ostatním druhům dřevokazných hub a jeho výskyt byl pozorován celoročně. Jednalo se tedy o vzorky schopné přežít v proměnlivých podmínkách a schopné ustát konkurenční prostředí druhů. Jako nejvhodnější se jevily dvě lokality okolí rešovských vodopádů nacházející se v údolí na horním toku říčky Huntavy, asi 1,5 km od vsi Rešov v Nížkém Jeseníku. Je to oblast s hojným výskytem dřevokazných hub, což je dáno pravděpodobně tím, že se jedná oblast přiléhající ke kaňonu říčky, je to Národní přírodní rezervace, tedy zde není povoleno hospodaření s ledními porosty a přirozeně odumírající dřevní hmota a vysoký podíl vzdušné vlhkosti jsou ideální pro růst basidiomycet. Druhou lokalitou byl les mezi částí obce Mrsklesy – Kovákov a obcí Hlubočky-Mariánské údolí. Oblast je sice sušší, ale jsou zde hojně zastoupeny převážně stromy z čeledi bukovitých, a to převážně druhy z rodu buk lesní (*Fagus sylvatica*), dub letní (*Quercus robur*). V této oblasti se daří především bazidiomycetám jako je plstník, outkovka pestrá či pásovaná (viz.obr. 31 a 32). Velkou výhodou této lokality je nepříliš přístupný svažité terén je v těchto s nízkým půdním překryvem.



Obrázek 34 Sběrné místo mateřských plodnic *Trametes versicolor*



Obrázek 35 Outkovka pestrá a Outkovka pásovaná rostoucí v lokalitě mezi částí obce Mrsklesy – Kovákov a obcí Hlubočky-Mariánské údolí v lednu roku 2018.



Obrázek 36 Pevník plstnatý v lokalitě mezi částí obce Mrsklesy – Kovákov a obcí Hlubočky-Mariánské údolí.

Stromy díky tomu nedorůstají velkých rozměrů a opět z těchto důvodů nejsou pro dřevařský průmysl příliš atraktivní, a i odumírající dřevo je zde ponecháno k volnému rozkladu. Houby z čeledi dřevokazných se zde díky tomu vyskytují v poměrně hojném množství především na pařezech či polomovém dřevu. Jejich jediným přirozeným nepřítelem je prase divoké, které obzvláště v chladných jarních dnech měsíce března ožirají mateřské plodnice těchto hub z dostupných míst. Houby druhu *Trametes versicolor* zde i v zimních měsících dosahují nejvyššího produktivního růstu viz. obr. 31. V oblasti Mrsklesy-Kovákov a obce Hlubočky-Mariánské údolí (M1) jsem odebrala vzorky druhu *Trametes versicolor* a v oblasti okolí Rešovských vodopádů (M2) jsem odebrala několik troudnatic kopytových.

Metodika odběru mateřských plodnic

Po vytipování vhodného konkrétního místa odběru je nejprve nutné vyselektovat tu část rostliny, kterou je potřeba odebrat. Nikdy totiž není vhodné sejmut celý pokryv, ale pouze maximálně 1/5 celé rostliny z důvodů přežití organismu.

Veškeré práce byly prováděny se sterilizovanými pomůckami a bylo nutné mít nasezeny ochranné sterilní rukavice.

Odebírala jsem pouze ty části, které se jevily jednak:

- jako dostatečně vzrostlé
- jejich odběrem by nedošlo výraznému nenarušení celé rostliny či hostitelskou dřevní hmotu

Vybrané části mateřské rostliny jsem oddělovala pomocí sterilizovaného nože a odkládala na filtrační papír. Pokud byla odebraná část rostliny příliš masivní byla přímo na místě rozdělena na menší části, jež jsem posléze vkládala do čistých polyethylenových na zip uzavíratelných sáčků a pečlivě označila. Přímo na místě byla pořízena fotodokumentace ilustrující množství odebraného vzorku vůči celkové vzrostlé kultuře a stručný popis charakteru místa odběru. Veškeré informace týkající se odběru hub jsem si zaznamenávala do sběrového protokolu. Pokud sběr proběhl

při velmi nízkých teplotách bylo nutné před samotnou inokulací média provést nejprve aklimatizaci odebraných vzorků na teplotní podmínky, při kterých budou následně prováděny experimenty. Aklimatizace se provádí v teplotně odstupňovaných zónách s rozdílem teplot okolo max 10 °C, přičemž v každé zóně musejí vzorky setrvat okolo 2 hodin. V případě, že nebylo možné vzorky okamžitě zpracovat byly uloženy v chladničce při teplotě 4 °C.

2.2 Inokulace a fruktifikace

Inokulace je první fází každé kultivace (pomnožování) mikroorganismů. Provádí se přenesením očkovacího materiálu buď z uchovávacího média (agarové desky apod.) nebo přímo z čerstvě odebraného vzorku. Pro potřeby mé dizertační práce byl použit pro každý typ nosiče poněkud odlišný inokulační postup. Během inokulace jsem se snažila zachovat pravidla sterilní práce, tak aby se do média dostal pouze sledovaný mikroorganismus.

2.2.1 Inokulace substrátového nosiče:

Tvorba metodiky inokulace byla nejzásadnější fází celého procesu, neboť jediné úspěšná kolonizace nosného média mohla zajistit správné fungování bioremediace. Na technikách inokulace jsem pracovala od prosince roku 2016, kdy jsem se snažila na základě kolonizačních metod jiných druhů hub (hlíva ústříčná, lysohlávka česká) zpracovat vhodný postup. Od dubna roku 2017 jsem začala sbírat vzorky z volné přírody a pokoušela se o nárůst mycelia v substrátových koších. Inokulace substrátového nosiče probíhá ve třech fázích. První fáze spočívá v dostatečném napěstování základního očkovacího materiálu, při druhé fázi je k základní bázi přidáno i menší množství substrátu. V poslední fázi je pak toto inokulum přeneseno přímo do košů jednotky.



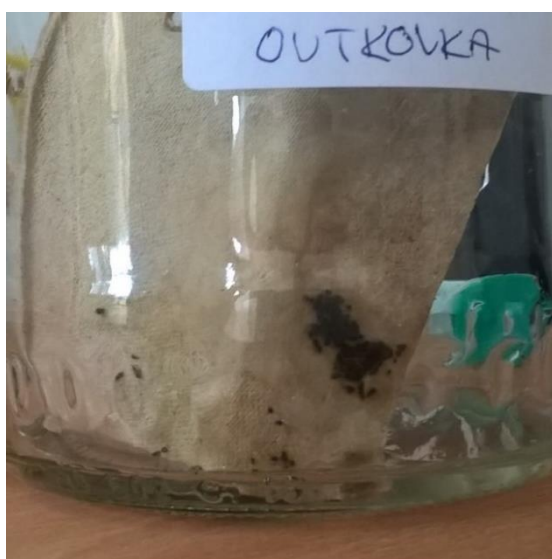
Obrázek 37 Hydroponní kostky z čedičové vaty od firmy Saint Gobain

První fáze – čerstvě odebrané aklimatizované vzorky mateřské houby opatrně rozebrané, popř. nakrájené na dílky byly vloženy do vysterilizovaných zavařovacích sklenic o objemu 500 ml, přičemž do každé sklenice. Následně byl ke vzorku přidán předem zvlhčený lepenkový (nebo vaječný) plát o rozměru 30 x 70 mm. Sklenice se opatřily perforovaným víčkem přelepeným vatovým filtrem a uložily do temna při pokojové teplotě. Celý průběh první fáze byl prováděn v ochranných sterilních rukavicích a nástroje se po každém úkonu dezinfikovaly 40 % lihem veškerá manipulace s mateřskou houbou probíhala na čistém filtračním papíře. Sterilizace sklenic byla provedena vyvářením při teplotě 100 °C po dobu 10 minut.



Obrázek 38 - Vzorky po první inokulační fázi před uložením do temna

Druhá fáze – cca po 14 dnech byly zavařovací sklenice vyjmuty z temna. Úspěšně naočkovaní se projevilo přenosem mycelia z mateřské houby na lepenku nebo popřípadě výskytem spor. Po vizuální kontrole byly k vzorkům přidány cca 2 g čedičové vaty, 15 g párou sterilizovaných hoblin a 10 ml kohoutkové vody a s následným opětovným uložením do temna při pokojové teplotě.



Obrázek 39 Proces inokulace vaječných plat a přerůstání mycelia z vaječných plat do substrátu

Třetí fáze fruktifikace a kolonizace košů – po dalších 14 dnech byl obsah sklenic vyjmut a uložen na dno filtračních košů vystlaných perlinkou. K němu přidáno 5 l čedičových kostek, 40 l hoblin, lepenky nařezané na plátky max 15 x 15 cm. Substrát byl promíchán a zkrápen cca 2 l kohoutkové vody. Takto připravené koše byly přemístěny na polyethylenovou podložku a překryty folií z důvodů zamezení vysychání substrátu. Následně jsem každé 4 dny prováděla zkrápění koše cca 1 l kohoutkové vody přímo v jednotce. Už po týdnu bylo v koších pozorovatelné mycelium a spory či vláknité prorůstání.



Obrázek 40 Růst mycelia v koších na substrátu

2.2.2 Inokulace kostek:

Inokulační metoda a proces fruktifikace byl u 3D kostek mírně odlišný. Jednak celkově se proces urychlil díky přidávání agarovo-glukózového roztoku, který v tomto případě působil jako katalyzátor růst. Dále zcela odpadly fáze postupného rozrůstání na substrát a jejich pěstování v koších, neboť samotné testování proběhlo přímo v očkovacích sklenicích.

Na očkování byly opět použity zavařovací sklenice o objemu 500 ml opatřené alobalovým překryvem, filtrem z vatového tampónu a uzavřené perforovaným hliníkovým šroubovacím víčkem. Sklenice včetně víček byly vysterilizovány ve vodě při 100 °C po dobu 30 minut. Kostky se tiskly nejméně 24 h před inokulací.



Obrázek 41 Sterilizované inokulační sklenice s předpřipravenými 3D kostkami na inokulaci, průběžná kontrola růstu mycelia pro Printscreens test (zleva)

Inokulace mateřskou houbu byla prováděna až po úplné aklimatizaci (viz výše sběr vzorků). V případě velmi nízkých venkovních teplot bylo nutné ihned po odebrání ponechat vzorky po dobu 2 h ve venkovních teplotách. Poté přemístit do prostředí o teplotě s rozdílem 10 °C oproti venkovním teplotám a pak až přenést do pokojové teploty. Po celou dobu aklimatizace musí být mateřské houby uloženy ve vzorkovacích sáčkích zdržení a v každé teplotní zóně musí být na dobu alespoň 2 h. Mateřská houba byla rozdělena na vzorky o velikosti přibližně 2 x 2 cm a vložena do očkovací sklenice spolu s kostkami. Ke každému vzorku bylo přidáno 20 ml agarovo-glukózového roztoku vyrobeného z 10 g glukosy, 15 g agaru a 1 l destilované vody. Sklenice opatřené alobalovým překryvem s odvětráním a zavíčkované šroubovacím hliníkovým víčkem ve středu perforovaným s filtrem z buničité vaty byly uloženy do temna při teplotách okolo 20 °C.



Obrázek 42 Příprava mateřské plodnice *Trametes versicolor* na inokulaci, Inokulační sklenice před uložením do temna

Kontrola růstu mycelia (popř. sporů) byla prováděna min. každé 3-4 dny vždy za přidání min. 5 ml agarovo-glukózového roztoku. Namíchaná dávka AG roztoku byla přechovávána v lednici za teploty 5 °C po dobu maximálně jednoho týdne. Poté byl namíchan roztok znovu. Po 12 dnech od inokulace už bylo možné provádět testy. Před započítáním testů byl ze sklenic pomocí pipety odebrán přebytečný AG roztok.

3 FÁZE – Testování

3.1 Sulfonamidová antibiotika – selekce testovaných xenobiotik

Inokulace

Sulfonamidy patří mezi širokospektrální bakteriostatická antibiotika, které nalezly široké uplatnění jak v humánní, tak veterinární medicíně [138; 139]. V minulosti byla velmi široce používána jako antibiotika pro humánní léčbu. V dnešní době však existuje omezení vůči použití sulfonamidových antibiotik kvůli rostoucí bakteriální rezistenci, potenciálu nežádoucích účinků a dostupnosti aktivnějších antibiotik. Nicméně jejich využití v rámci veterinární medicíny přetrvává a velmi často se používají u prasat a skotu k léčbě bakteriálních onemocnění [140]. Jejich kompetitivní působení je založeno na inhibici kyseliny listové, která je růstovým faktorem bakterií.

Nejčastěji se používají k léčbě bakteriálních onemocnění způsobených streptokoky, hemofily, aktinomycetami, neiseriemi, chlamydiemi.

K jejich metabolizaci dochází v játrech a z těla jsou vylučovány v moči a stolici. Značná část těchto látek se tedy do ekosystémů dostává buď ve formě metabolitů či dokonce v nezměněné podobě z důvodů špatné adsorbovatelnosti a odbouratelnosti ve střevech lidí a zvířat [141; 142]. Hospodářská zvířata a domácí odpadní vody jsou hlavním zdrojem antibiotik ve vodních ekosystémech. Sulfonamidy nemohou být zcela odstraněny čistírnami odpadních vod [143; 144; 145; 146] nebo dokonce během odstranění byla často zjištěna v ČOV jako výsledek reverzní přeměny metabolitu N⁴-acetylsulfonamidu [143; 144]. Z tohoto důvodu, jsou sulfonamidy všude přítomné jak půdě, tak ve vodních ekosystémech [144; 147]. Sulfonamidy v běžných podmínkách vykazují vysokou míru stability a mají dlouhý poločas rozpadu [148; 142] a díky nízkým hodnotám log K_{OC} disponují vysokou pohyblivostí v povrchových a podzemních vodách [141]. Mohou zhoršovat růst mikroorganismů, řas a vodních rostlin [149; 147] a mají negativní dopad na strukturu a funkci mikrobiální komunity [150]. Navíc zvyšují odolnost patogenních bakterií a urychlují šíření rezistence vůči antibiotikům, což má za následek vyšší míru infekcí a mortality u člověka [151; 152; 139]. Antimikrobiální rezistence na sulfonamidy se objevila poměrně rychle po jejich prvním zavedení v léčebných terapiích.

Nejčastěji jsou v odpadních vodách detekovány Sulfapyridin, Sulfamethoxazol a jeho acetylovaný metabolit N⁴-acetylsulfamethoxazol [153] neboť 20 % sulfamethoxazolu v moči je nezměněný lék, 15–20 % je konjugát N-glukuronidu a 50–70 % je acetylovaný metabolit. Obecně se uvádí, že SMX je jedním z nejodolnějších sulfonamidů v znečištěné říční vodě, zatímco STZ byl vyhodnocen jako nejvíce biodegradabilní sulfonamid v běžných přírodních vodách [154].

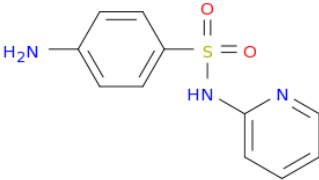
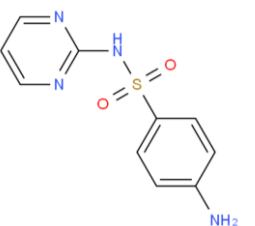
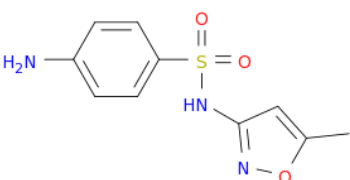
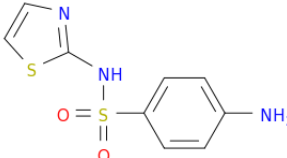
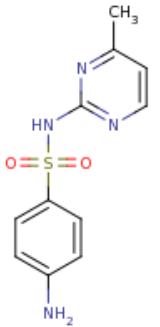
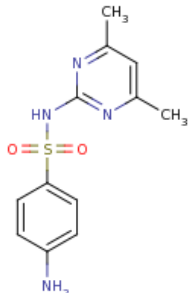
Sulfonamidová antibiotika jsem pro mou práci vybrala na základě doporučení kolegyně z fakulty chemické, které se dlouhodobě věnují výskytu těchto léčiv v odpadních vodách. A mají četné zkušenosti s jejich analýzou ve vodních vzorcích.

Pro testování byl použit směsný zásobní roztok sledovaných sulfonamidových antibiotik obsahující Sulfapyridin, Sulfamethaxazole, Sulfamethazin, Sulfathiazol, Sulfamerazine. Při testování 3D kostek byla skupina rozšířena ještě o Sulfadiazin.

Použité standarty:

- Sulfapyridin – Sigma Aldrich, čistota ≥ 99 %
- Sulfadiazin – Sigma Aldrich, čistota ≥ 99 %
- Sulfathiazol – Sigma Aldrich, čistota ≥ 99 %
- Sulfamethoxazol – Sigma Aldrich, čistota ≥ 99 %
- Sulfamerazin – Sigma Aldrich, čistota ≥ 99 %
- Sulfamethazin – Sigma Aldrich, čistota ≥ 99 %
- Sulfathiazol-d4 – Toronto Research Chemicals
- Sulfamethoxazol-d4 – Neochema GmbH, 100 µg/ml v MeOH

Tabulka 12 Sulfonamidy vybrané pro testování

NÁZEV SULFONAMIDU	ZÁKLADNÍ CHEMICKÉ STRUKTURA	ZÁKLADNÍ VLASTNOSTI
Sulfapyridin (SPY)		$M_m - 249,288 \text{ g.mol}^{-1}$ Rozpustnost ve vodě (25 °C) - 0,235 mg·ml ⁻¹
Sulfadiazin (SDZ)		$M_m - 250,277 \text{ g.mol}^{-1}$ Rozpustnost ve vodě (25 °C) - 0,601 mg·ml ⁻¹
Sulfamethoxazo l (SMX)		$M_m - 249,288 \text{ g.mol}^{-1}$ Rozpustnost ve vodě (25 °C) - 0,235 mg·ml ⁻¹
Sulfathiazol (STZ)		$M_m - 255,317 \text{ g.mol}^{-1}$ Rozpustnost ve vodě (25 °C) - 0,921 mg·ml ⁻¹
Sulfamerazin (SMR)		$M_m - 264,304 \text{ g.mol}^{-1}$ Rozpustnost ve vodě (25 °C) - 0,304 mg·ml ⁻¹
Sulfamethazin (SMZ)		$M_m - 278,33 \text{ g.mol}^{-1}$ Rozpustnost ve vodě (25 °C) - 0,230 mg·ml ⁻¹

Tabulka 13 – Účinnost odbourávání sulfonamidů v konvenčních ČOV [155]

SYSTÉM A STAV	ÚČINNOST ODSTRAŇOVÁNÍ	REFERENC E
CAS: HRT 5 ⁻¹⁵ h; SRT 3 ⁻¹² d	72% odstranění SPY; 60% odstranění SMX; 81 až 96 % N ⁴ odstranění – acety-SMX; 51 až 68 % SMX + N ⁴ odstranění – acety-SMX	[144]
CAS: HRT 31 h; SRT 21-25 d; Reaktor s pevným ložem: HRT 1 hod		
MBR: HRT 13 h; SRT 16-80 d	> 95 % N ⁴ odstranění – acety- SMX; 54 ± 5% odstranění SPY; 37 ± 1% odstranění SMX; 70-90 % SMX + N ⁴ odstranění – acety-SMX	
Aktivovaný kal: HRT 22 h; SRT 4,5-6 h	Odstranění SMX 0-64 %; 50% odstranění SDZ nebo SM2	[156]
Oxidační příkop: HRT 12 ⁻¹⁸ h		
Aktivovaný kal: HRT 15-22 h; SRT 5,6-8,2 hod		
Chemicky zvýšený CAS: HRT 8 ⁻¹² h; SRT 3-4 h		
	Odstranění 100 % SMT; Odstranění SMR 33-75 %; SMX, SPY, SDZ vykazují negativní odstranění	[143]
CAS: HRT 11,5 h; SRT 7.2 d	100 % -85,2% odstranění sulfonamidu	
CAS	50 ⁻¹⁰⁰ % odstranění sulfonamidu	[157]
Upgradované A / A / O	60,8-91,2% odstranění sulfonamidu	
Oxidační příkop	47,2-77,2% odstranění sulfonamidu	
CAS: HRT 12 h; SRT 17 d	41,4-82,2% odstranění sulfonamidu	[158]
Anaerobní nádrž / trojitá oxidační příkop: HRT 142 h; SRT 25 d	54,7-76,2% odstraňování sulfonamidu 30-60% odstranění sulfonamidu v anaerobní nádrži	
CAS: SRT 10 ⁻¹² d	41 ⁻¹⁰⁰ % odstranění sulfonamidu	[145]
MMBR: HRT 2 h	<35% odstranění sulfonamidu	[159]

Koncentrace pro modelové vody byla zvolena na základě reálných koncentrací sulfonamidových antibiotik v odpadních vodách, vlivu matričního efektu a limitů detekce, na hodnoty:

- Pro substrátové koše – $100 \mu\text{g.l}^{-1}$ u každého analytu v kohoutkové vodě
- Pro 3D kostky:
 - Pro Printscreen test – 1 mg.l^{-1} u každého analytu v destilované vodě
 - Pro Setup test – $20 \mu\text{g.l}^{-1}$, $100 \mu\text{g.l}^{-1}$, 1 mg.l^{-1} a 2 mg.l^{-1} u každého analytu v kohoutkové vodě a $20 \mu\text{g.l}^{-1}$ každého analytu v odpadní vodě

V případě vyhodnocení testování substrátových košů pak vzhledem k velkému matričnímu efektu se přistoupilo až k dávce 20 mg.l^{-1} jednotlivých analytů. Bohužel u takto vysokých dávek se vlivem složitosti matrice, pravděpodobně zapříčiněné vysokým podílem organických sloučenin, se podařilo detekovat pouze 2 analyty, které však byly pod mezemi kvantifikace.

Z hlediska doby trvání testů 3D kostek v koncentračních hladinách $20 \mu\text{g.l}^{-1}$, $100 \mu\text{g.l}^{-1}$ byly stanoveny 3 doby ukončení testu a to po 3, 5 a 7 dnech. Testy s koncentracemi 1 mg.l^{-1} a 2 mg.l^{-1} měly charakter dlouhodobých testů s průběžnými odběry, přičemž testy s 1 mg.l^{-1} se ukončovaly po 10 dnech a test s 2 mg.l^{-1} až po 21 dnech.



Obrázek 43 (zleva) Roztok sulfonamidových antibiotik, Příprava modelové vody



Obrázek 44 (zleva) Modelová voda pro testování substrátu v koších, Slévání vzorku po ukončeném testování

3.2 Testování – substrátový biofiltr

3.2.1 Metodika testování biofiltr v koších

Test byl proveden ve třech koších s označením A, B, C. Koš A byl kolonizován kompaktní dřevní hmotou porostlou *Trametes versicolor* odebranou z přírodního prostředí odběrného místa M1. Koše B a C byly kolonizovány myceliární formou napěstovanou v laboratorních podmínkách.

Sběr vzorku dřevokazných hub

Sběr plodnic pro koše B, C proběhl ve 10.7. 2017 v 9:00 hod, při teplotě okolního vzduchu 23 °C v lokalitě M1 – les mezi částí obce Mrsklesy-Kovákov a obcí Hlubočky-Mariánské údolí (Olomoucký kraj). Odběr provedla Adéla Žižlavská. Plodnice byly odebrány z pařezu dubu letního (*Quercus robur*) s velmi vzrostlým pokryvem *Trametes versicolor*. Odběr kompaktní dřevní hmoty pro koš A byl učiněn 14.8.2017 v 6:30 hod, při teplotě okolního vzduchu 20 °C.

Přechovávání nasbíraných vzorků

Bezprostředně po odebrání, byli vzorky převezeny do laboratoří výzkumného centra AdMaS, vzhledem k příznivým venkovním teplotním podmínkám nebylo nutné vzorky aklimatizovat. Celková hmotnost vzorku pro koše B, C činila 52,7 g.

Celková hmotnost kompaktní dřevní hmoty činila 428,9 g.



Obrázek 45 Mateřské plodnice sesbírané dne 10.7. 2017 připravené k inokulaci košů B a C

Inokulace

Dne 10.7.2017 bylo kolonizováno 7 sklenic o objemu 500 ml, jež byly při pokojové teplotě uloženy do temna. Dne 24.7.2017 byl k napěstovanému myceliu přidán sterilizovaný substrát. Průběžné vizuální kontroly vzorků odhalily případné plísňe či jiné růst inhibující defekty. Dne 9.8.2017 byl kolonizovaný substrát přemístěn na dno košů vystlaných perlinkou a po dosypání substrátové hmoty se koše zavěsily do nádrže a byly zkröpfeny 2 l kohoutkové vody. Bezprostředně po zkröpfícím cyklu se koše vložily do PE pytlů s opatřených ještě ochranou vrstvou z transparentní stavební folie. Pravidelná kontrola košů B, C proběhla každé 3 dny. V případně zjištění vyschnutí substrátu byl koš zkröpfen po dobu 3-4 minut 2 l kohoutkové vody.

Test

Dne 26.8. 2017 byl zahájen test pro všechny tři koše (A, B, C). Koše se zkröpfely kontaminovanou modelovou vodou ve 3 cyklech po dvou sériích. Na každý koš byla použita modelová voda o objemu 4 l s koncentrací 100 µg.l⁻¹ každého analytu. Po každém zkröpfícím cyklu se provedla výměna pískového filtru a vatového filtru. Bezprostředně po ukončení testu byly lahve převezeny k vyhodnocení na fakultu chemickou, přičemž celkem se k analýze připravilo šest 1 l lahví.

Tabulka 14 Záznam průběhu testu se substrátovými koši

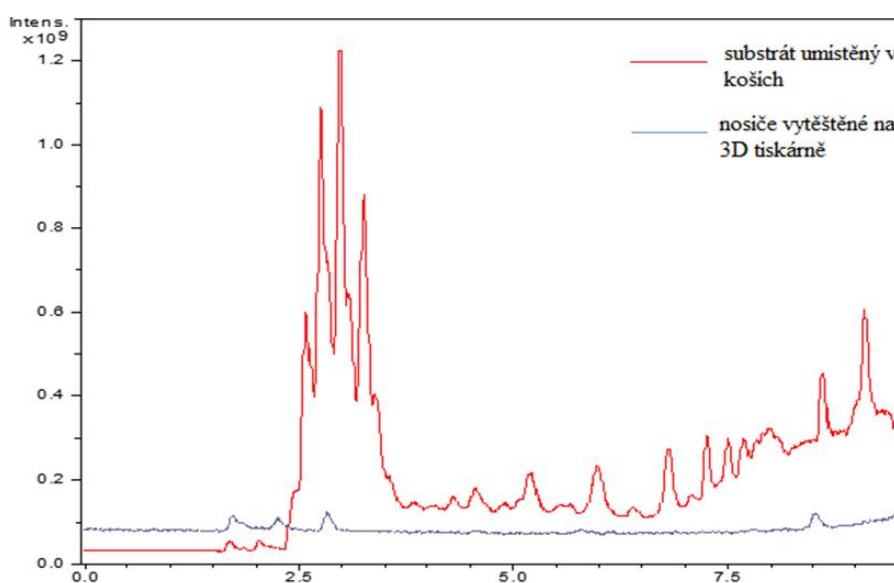
SÉRIE	KOŠ	A		B		C	
	CYKLY	min	ztráta (ml)	min	ztráta (ml)	min	ztráta (ml)
1	I	8:43	50 ml	7:42	50ml	7:50	50 ml
	II	7:20	50 ml	4:07	20 ml	7:00	40 ml
	II	6:37	20 ml	4:30	20 ml	6:18	20 ml
2	I	10:15	50 ml	8:32	30 ml	8:32	80 ml
	II	7:29	50 ml	7:32	20 ml	6:40	70 ml
	II	7:42	50 ml	7:32	20 ml	7:30	90 ml



Obrázek 46 Vzorky připravené k převozu na FCh k vyhodnocení testování

3.2.2 Vyhodnocení testu

Jak již bylo uvedeno v kapitole věnované sulfonamidovým antibiotikům a modelovým vodám pro první byla test zvolena koncentrace $100 \mu\text{g.l}^{-1}$ každého analytu. Bohužel však i po proměření optimalizovanou metodou SPE-LC/MS nebyly z EIC chromatogramů cílových hmot detekovány žádné analyty. Z tohoto důvodu byl proveden ještě jeden dodatečný test, kde byla koncentrace sulfonamidů v modelové vodě zvýšena na 20 mg.l^{-1} . Testu byly podrobeny pouze koše A a B ve třech cyklech tentokrát pouze v jedné sérii. V tomto případě se podařilo detekovat alespoň 2 analyty, které však byly pod mezemi kvantifikace. Tento způsob nosiče byl proto pro účely testování eliminace nevhodný, a to především z důvodu složitosti matrice a silného matričního efektu, což znemožňovalo stanovení sulfonamidů izolovaných z této matrice. Matriční efekt se nepodařilo eliminovat ani úpravami SPE postupů ani nastavením LC podmínek. Proto bylo od dalších testů s tímto nosičem prozatím upuštěno a přistoupeno k hledání nového nosiče.



Obrázek 47: Srovnání TIC chromatogramů analýzy matrice z výluhů testovaných nosičů houbového mycelia [155]

3.3 Testování – 3d kostky

3.3.1 Návrh metodiky testování

Návrh metodiky testování kostek je rozvržen do 3 samostatných etap.

První etapa zahrnuje tzv. Pre-testaci nosiče z hlediska základních fyzikálně chemických vlastností, a to nasákavosti a vyluhovatelnosti. Test nasákavosti měl prověřit schopnost kostek absorpce vody a její proměnlivost v čase. S cílem prověřit kostky, zdali ve vodním prostředí nedochází k uvolňování látek, jež by mohli opět ohrozit výsledek vyhodnocení testů z hlediska matričního efektu či nějakým jiným způsobem zkreslovat výsledné hodnoty.

Druhá etapa pak zahrnovala testování kostek z hlediska účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik. V této etapě byl proveden tzv. Printscreen test a jeho cílem bylo ověřit účinnost odbourávání sulfonamidových antibiotik z modelové vody obsahující koncentraci sulfonamidových antibiotik 1 mg.l^{-1} pro jako modelová medium byla použita destilovaná voda. K takto vysoké koncentraci bylo přistoupeno z důvodů obav z možného negativního účinku matričního efektu na vyhodnocení testů.

Třetí etapa nazvaná Set-up se zaměřila na získání základních klíčových dat, jež by ověřila účinnost odbouratelnosti jednak v závislosti na různých variacích koncentračních hladin sulfonamidových antibiotik a na době zdržení. V rámci testů pak byly použity i reálné vzorky odpadní vody z ČOV Modřice v Brně.

Přehledné řazení a průběh testů druhé a třetí etapy a jejich základní specifikace je sumarizována v tabulce 14.

3.4 Testování 3D kostek

3.4.1 Print screen test

Základní parametry testu:

Koncentrace sledovaných látek: 1 mg.l^{-1} u každého analytu,

Modelová voda: destilovaná

Doba trvání testu: 7 dnů,

Stáří mycelia: 12 dní

Celkem vyhodnoceny: 3 vzorky s označením V1, V2 a V3

Místo, čas odběru mateřských plodnic:

Odběr mateřských plodnic pro test Printscreen byl proveden v lokalitě M1 ve čtvrtek 15. 03. 2018 v 6:30 hod. Teplota vzduchu $4,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Odběr provedla Adéla Žižlavská. Plodnice byly odebrány z pařezu dubu letního (*Quercus robur*) s velmi vzrostlým pokryvem *Trametes versicolor*. Sběr mateřských plodnic byl prováděn sterilizovaným nožem a vzorky se ukládaly do čistého uzavíratelného sáčku. Přímou na místě byla pořízena fotodokumentace ilustrující množství odebraného vzorku vůči celkové vzrostlé kultuře (obr 43). Na spodní části pařezu pod pokryvem spadaneho listí byl také odebrán vzorek mycelia (obr 44) a uložen do sterilizované sklenice.

Tabulka 15 Harmonogram průběhu Printsreen a Setup testů

Soubor	Název testu	Specifikace	Počet sklenic	Koncentrace	Datum Inokulace	Datum zahájení testu	Datum ukončení testu / Datum průběžného odběru vzorku				
							24 h	3 d	5 d	7 d	10 d
V(A)	Printscreen test	Inokulace 3 sklenic	3	1 mg/l	15.03.2018	27.03.2018				03.04.2018	
I	Setup test	Inokulace 7 sklenic	3	100 ug/l	27.03.2018	06.04.2018				13.04.2018	
			3	20 ug/l				09.04.2018			
			1	2 mg/l							21 d
II	Setup test	Inokulace 8 sklenic	6	100 ug/l	05.04.2018	16.04.2018		19.04.2018	21.04.2018		
			2	20 ug/l					21.04.2018		
III	Setup test	Inokulace 3 sklenic	1	20 ug/l	09.04.2018	19.04.2018			24.04.2018		
			2	1 mg/l	09.04.2018	20.04.2018	21.04.2018	23.04.2018		27.04.2018	30.04.2018
IV	Setup test	Inokulace 6 sklenic	3	20 ug/l	10.04.2018	20.04.2018				27.04.2018	
			3	20 ug/l – OV						27.04.2018	
V	Setup test	Inokulace 6 sklenic	3	20 ug/l – OV	13.04.2018	23.04.2018			28.04.2018		
			3	20 ug/l – OV	16.04.2018	27.04.2018		30.04.2018			



Obrázek 48 (zleva) Fotodokumentace odběrná místa přes a po odběru ze dne 15.03.2017



Obrázek 49 Detail mycelia rostoucího na odběrném místě ze dne 15.03.2017

Přechovávání nasbíraných vzorků:

Bezprostředně po odebrání se vzorky přemístily do prostředí s pokojovou teplotou v rozmezí 24-25 °C a zde ponechány po dobu 8 hod. V 14:30 pak bylo provedeno vážení vzorku v laboratoři výzkumného centra AdMaS na přístroji Travel Scales od firmy OHAUS. Celková váha vzorku činila 141,1 g.

Nosiče:

Jako inokulační nosič byly použity kostky o velikosti 25 x 25 x 25 mm. Vytisknuté na 3D tiskárně ORIGINAL PRUSA i3 MK2 s vnitřní mřížkou z materiálu Timberfill® Ø 1,75 mm barvy Champagne s pracovní teplotou 170–185 °C od firmy Fillamentum. Na jednu sklenici připadají 3 kostky o rozměru 25 x 25 x 25 mm. Při tisku byl pro strukturu použit režim DRAFT a pro hustotu tisku režim lehká 20 %, teplota trysky při tisku byla držena na hodnotách oscilujících okolo 181 °C. Pro potřeby testu bylo současně připraveno 9 nosičů tištěných ze stejného filamentu.

Tisk byl proveden 14.03.2018

Očkování nosičů:

Očkování bylo prováděno v laboratoři centra AdMaS dne 15. 03. 2018.

Pro printscreen test se inokulovaly celkem 3 sklenice o objemu 500 ml s označení V1, V2, V3. Do každé sklenice se vkládaly 3 kostky o rozměru 25 x 25 x 25 mm. Vzorky mateřské plodnice houby druhu *Trametes versicolor* byly odváženy v množství 5 mg na sklenici a následně naporcovány na kousky o velikosti max. 2 x 2,5 cm a přidány do inokulačních sklenic k bionosičům. Následně se do každé sklenice přidalo 20 ml agarovo-glukózového roztoku. Sklenice se opatřily alobalovým překrytím s odvětráním. Na perforované šroubovací víko odvětrání sklenic se přiložil filtr z buničité vaty. Sklenice byly uloženy do temna při pokojové teplotě.

Kontrola růstu mycelia:

20. 03. 2018 - úterý – 10:00 Provedena průběžná fotodokumentace vzorků. Ke každému vzorku bylo přidáno 5 ml AG roztoku. U každého vzorku je patrný růst mycelia (viz. obr 45, 46 ,47).



Obrázek 50 Printscreen test – vzorek – V1 bezprostřední po inokulaci, kontrola růst ze dne 20.03.2018



Obrázek 51 Printscreen test – vzorek – V2 bezprostřední po inokulaci, kontrola růst ze dne 20.03.2018



Obrázek 52 Printscreen test – vzorek – V3 bezprostředně po inokulaci, kontrola růst ze dne 20.03.2018

23. 03. 2018 – pátek – 16:00- Provedena průběžná fotodokumentace vzorků. Ke každému vzorku bylo přidáno 5 ml AG roztoku. Nejvyšší míru růstu mycelia vykazuje vzorek V3.



Obrázek 53 Vzorek V1 – kontrola růstu mycelia ze dne 23.03.2018



Obrázek 54 Vzorek V2 – kontrola růstu mycelia ze dne 23.03.2018



Obrázek 55 Vzorek V3 – kontrola růstu mycelia ze dne 23.03.2018

Průběh testu:

Po 12 dnech od inokulace 3D kostek bylo možné přejít k zahájení samotného testu.

Z každého vzorku byl odsát přebytečný AG roztok a přidáno 250 ml modelové vody s koncentrací 1 mg.l^{-1} každého analytu. V každém vzorku bylo změřeno pH a zaznačena hladina. Poté byly vzorky opatřeny perforovaným alobalovým překryvem a uloženy do termoskříní při teplotě 25°C bez přístupu světla. Test byl ukončen po 7 dnech. Po ukončení testu proběhlo měření pH a vzorky se přelily z inokulačních do vzorkovacích sklenic a převezly na analýzu do laboratoří ÚCHTOŽP.

27. 03. 2018 – úterý – 12:00 – Zahájen Printscreen test, nejvíce mycelia na pohled bylo ve vzorku číslo V2, zde ponecháno i větší množství zbytku AG roztoku, neboť nebylo možné roztok odebrat, aniž by nedošlo k poškození vrstvy mycelia prorůstajícího skrze kostky, roztok byl odebrán těsně před přidáním modelové vody se sulfonamidy.

Modelová vody byla připravena pro každý vzorek zvlášť v odměrných baňkách o objemu 250 ml.

Složení modelové vody – 1 mg.l^{-1} každého sulfonamidu tj. 250 μl sulfonamidového roztoku na 250 ml destilované vody. Destilovaná voda byla vyrobena přístrojem ELGA.

Vzorky jsem vložila do termoskříní a udržovala v temnu za konstantní teploty 25°C .

Souběžně se zahájením printscreen testu byl zahájen test odparu. Kdy se do termoskříní ke vzorkům V1 – V3 vkládaly i dvě totožné sklenice obsahující pouze 250 ml čisté destilované vody s označením O1 a O2. O1 byla bez alobalového překryvu O2 s alobalovým překryvem.

03. 04. 2018 – úterý – 11:00 – Ukončení Printscreen testu. Provedena závěrečná fotodokumentace. Vzorky přelity do vzorkovacích lahví a převezeny na FCh.

Souběžně byl ukončen i odpařovací test. U vzorku O1 zbylo ve sklenici 92 ml u vzorku O2 zbylo 232 ml destilované vody.

3.4.2 Set-up testy

Základní parametry testu:

Koncentrace sledovaných látek: 20 µg.l⁻¹, 100 µg.l⁻¹, 1 mg.l⁻¹ a 2 mg.l⁻¹ u každého analytu,

Modelová voda: kohoutková voda, odpadní voda z ČOV Modřice

Doba trvání testu: 3,5,7,10 a 21 dnů,

Stáří mycelia: 10⁻¹ dní, pro test 2 mg.l⁻¹ bylo použito mycelium staré 14 dní (I7)

Celkem vyhodnoceno: 5 souborů, I-7, II-8, III-3, IV-6, V-6; celkem 30 vzorků

Místo a čas odběru:

Pro soubory I, II a III byly použity mateřské plodnice odebrané dne 15.03.2018 z lokality M1. Pro soubory IV a V byl proveden odběr dne 09.04.2018 v 8:00 v lokalitě M1 při teplotě 8 °C.



Obrázek 56 Odběrné místo před odběrem a po odběru ze dne 09.04.2018

Nosiče:

Jako inokulační nosič byly použity krychle o velikosti 25 x 25 x 15 mm. Vytisknuty na 3D tiskárně ORIGINAL PRUSA i3 MK2 s vnitřní mřížkou z materiálu Timberfill ® Ø 1,75 mm barvy Champagne s pracovní teplotou 170–185 °C od firmy Fillamentum.

Na jednu sklenici připadá 5 kostek o rozměru 25 x 25 x 15 mm.

Při tisku byl pro strukturu použit režim DRAFT a hustota tisku v režimu lehká 15 %, teplota při trysky při tisku byla držena na hodnotách oscilujících okolo 181 °C.

Na tiskárně bylo tištěno vždy maximálně 9 nosičů současně ze stejného filamentu, celkem bylo pro Setup testy vytisknuto 150 kusů kostek.

Tisk byl proveden:

- 26.03 a 27.03.2018 -pro soubor I
- 03.04. a 05.04. 2018 - pro soubor II
- 05.04. a 06.04 2018 -pro soubor III
- 09.04, 12.04., 13.04., 16.04.2018 – pro soubor IV a V

Průběh testů je rozepsán formou protokolů jednotlivě pro každý soubor. Tyto protokoly jsou součástí přílohy dizertační práce.

3.4.3 Test růstu mycelia

Růst mycelia byl měřen na základě průměrné váhy 3 kostek z vybraných vzorků viz tabulka 18. Z průměrných váhových hodnot byl největší přírůstek zaznamenán u vzorků z odpadní vody. Porovnáním vzorků z testu s koncentrací 20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ v kohoutkové a odpadní vodě vyplývá, že u 7 denního testu byl nárůst mycelia v odpadní vodě až o 2 gramy vyšší než u vody kohoutkové. Dokonce i u 3 denních testu v OV je váhový přírůstek vyšší než u 7 denních testů na kohoutkové vodě. Průměrná váha čisté kostky ponořené do kohoutkové vody činí v průměru 5,9 g váha čisté kostky po vyčištění je ≈ 5 g.

Tabulka 16 Porovnání váhy jednotlivých kostek po ukončení testů

VZOREK	KONCENTRACE	DOBA ZDRŽENÍ	DATUM	1. [g]	2. [g]	3. [g]	PRŮMĚR [g]
IV3	20 $\mu\text{g.l}^{-1}$	7 d	27.04.2018	6,5763	6,2573	6,0800	6,305
IV4	20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ -OV	7 d	27.04.2018	8,974	8,679	8,0450	8,566
V6	20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ -OV	3 d	30.04.2018	7,84	7,25	7,34	7,477
V4	20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ -OV	3 d	30.04.2018	6,91	7,72	7,72	7,450
V5	20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ -OV	3 d	30.04.2018	7,47	7,81	6,52	7,267
I7	2 mg.l^{-1}	21 d	30.04.2018	7,51	8,25	9,11	8,290
III1	1 mg.l^{-1}	10 d	30.04.2018	8,43	8,32	9,99	8,913
III2	1 mg.l^{-1}	10 d	30.04.2018	7,09	7,78	8,72	7,863

4 Vyhodnocení testů

Analýza vzorků byla provedena v laboratořích FCh Ústavu životního prostředí kolegyněmi Terezou Švestkovou a Petrou Sukovou. Petra Suková si na metodu analýzy vzorků pomocí této technologie zpracovala diplomovou práci.

Použité pomůcky a přístroje:

- Analytické váhy HR¹20-EC, a & D Instruments Ltd.
- Přístroj pro přípravu Milli-Q vody Millipore QGARD, Academic
- pH metr InoLab WTW series, Nameko, ČR
- Ultrazvuková vodní lázeň Kraintek 5
- Přístroj pro sušení pod dusíkem Evaterm, LABICOM s. r. o.
- Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series
- Kolona Kinetex C18 délka 150 mm, vnitřní průměr 3 mm, velikost částic 2,6 μm
- Kolona Ascentis Express C18 délka 150 mm, vnitřní průměr 2,1 mm, velikost částic 2,7 μm
- Kolona Ascentis Express HILIC délka 150 mm, vnitřní průměr 2,1 mm, velikost částic 2,7 μm

- Hmotnostní spektrometr Agilent Ion Trap 6320 LC/MS
- Generátor dusíku Peak Scientific
- SPE extraktor SUPELCO a J. T. Baker
- Vakuová pumpa KNF LAB LABOPORT
- SPE kolonky:
- Supel Select HLB 200 mg, 6 ml
- Oasis HLB 60 mg/3 ml
- Supelclean™ ENVI – 18 500 mg, 6 ml

Filtry:

- Munktell papírový filtr, průměr 125 mm, plošná hmotnost 84 g/m²
- Filtry se skleněnými vlákny NM GF 1, průměr 55 mm, Macherey-Nagel, Německo
- Stříkačkové filtry PTFE, 0,45 µm, průměr 13 mm, Labicom s.r.o
- Stříkačkové filtry Nylon, 0,22 µm, průměr 13 mm, Chromservis

Běžné laboratorní sklo a pomůcky

4.1 Print screen test

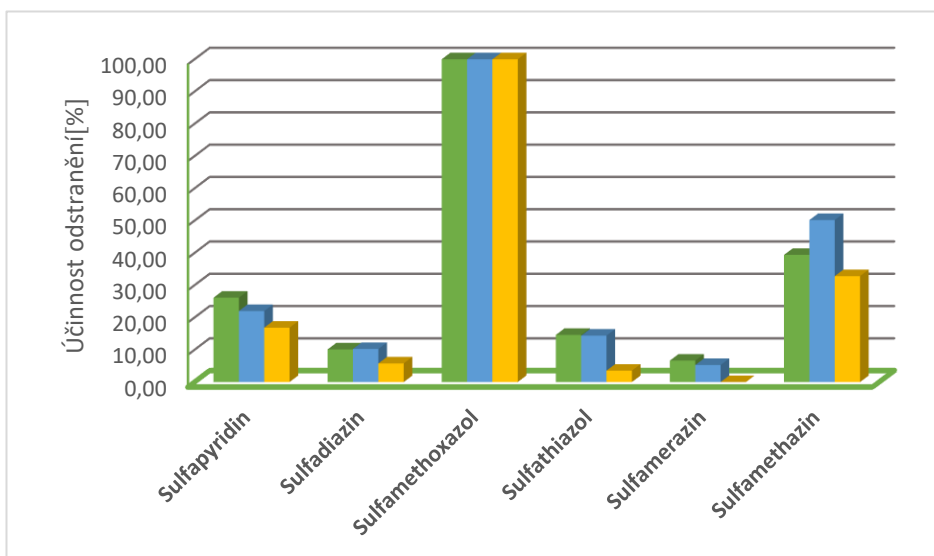
Základní parametry testu:

Koncentrace: 1 mg.l⁻¹ každého analytu; Medium: modelová voda– destilovaná; Doba trvání testu :7 dnů; Stáří mycelia: 12 dní; Celkem byly zpracovány tři vzorky o objemu 250 ml s označení V1, V2, V3.

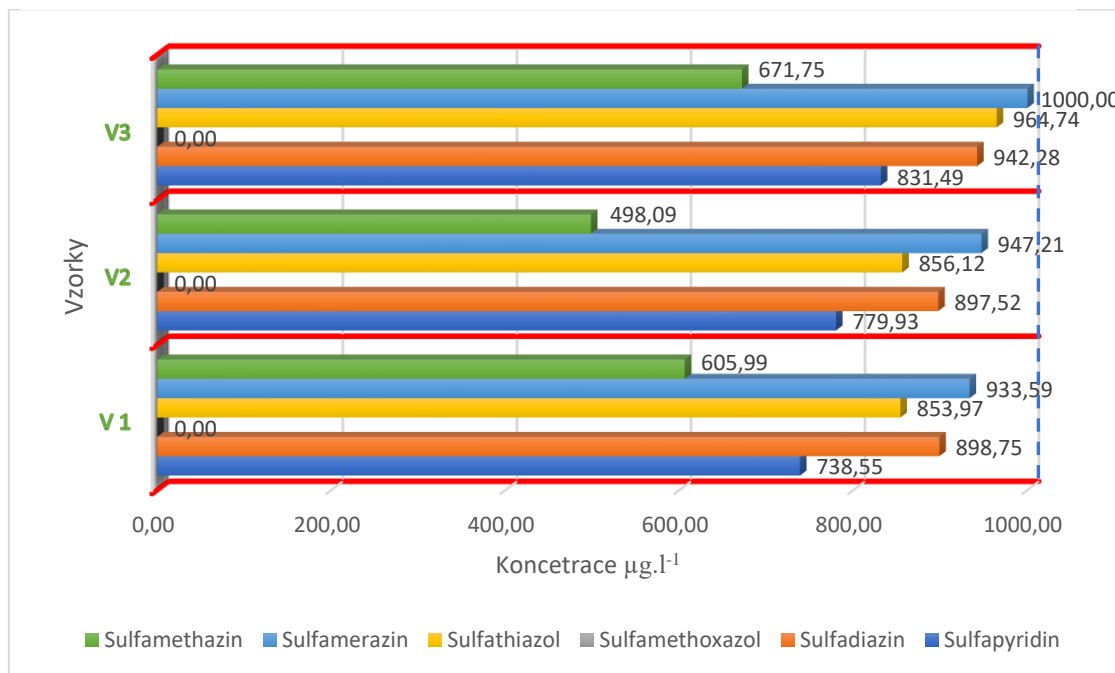
Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo dosaženo u Sulfamethaxazolu kde hodnoty dosáhly až na 100 % odstranění této látky, a to u všech vzorků. Naopak nejnižší míru odbouratelnosti vykazoval sulfonamid Sulfamerazin, u kterého průměrná hodnota eliminace činila 3,97 %, přičemž u vzorku V3 byla účinnost eliminace vyhodnocena jako nulová. Z hlediska celkového obsahu odbouraných sulfonamidů byl nejúspěšnější vzorek V2, kdy průměrná hodnota na vzorek byla 31 %. Průměrně eliminované množství činilo 1,86 mg.l⁻¹ všech sulfonamidových antibiotik.

Tabulka 17 Souhrnný přehled výsledků Printscreen testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor*

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	V 1	V2	V3	V 1	V2	V3	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	26,15	22,01	16,85	738,55	779,93	831,49	21,67	4,66	216,68
Sulfadiazin	10,12	10,25	5,77	898,75	897,52	942,28	8,71	2,55	87,15
Sulfamethoxazol	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	1000,00
Sulfathiazol	14,60	14,39	3,53	853,97	856,12	964,74	10,84	6,33	108,39
Sulfamerazin	6,64	5,28	0,00	933,59	947,21	1000,00	3,97	3,51	39,73
Sulfamethazin	39,40	50,19	32,83	605,99	498,09	671,75	40,81	8,77	408,06



Obrázek 57 Grafické srovnání výsledků Printsreen testu v účinnosti odbourávání



Obrázek 58 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Printsreen testu

4.2 Setup test

4.2.1 Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 20 µg.l⁻¹

Základní parametry testu:

Koncentrace: 20 µg.l⁻¹ každého analytu; Medium: modelová voda - kohoutková voda; Doba trvání testu: 3,5 a 7 dnů; Stáří mycelia: 10 dní. Celkem bylo zpracováno devět vzorků o objemu 250 ml.

Použité fruktifikační soubory: I, II, III, IV

*Tabulka 18 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹*

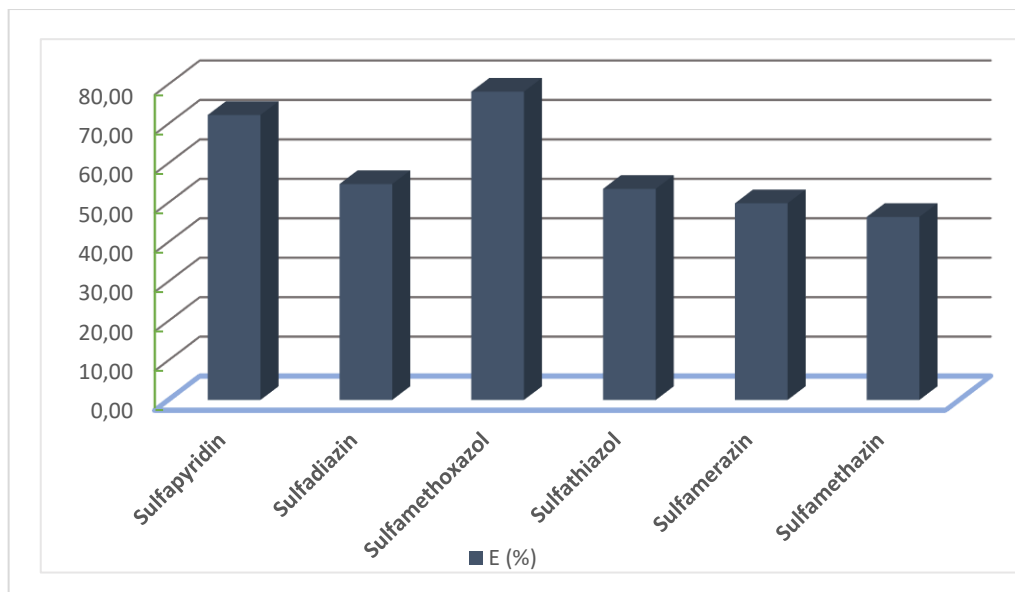
NÁZEV LÁTKY	VZORKY								
	Soubor I			Soubor II		Soubor III	Soubor IV		
	I 4	I 5	I 6	II 7	II 8	III 3	IV 1	IV 2	IV 3
	3 d	3 d	3 d	5 d	5 d	5 d	7 d	7 d	7 d
	míra odstranění v %								
Sulfapyridin	66,22	73,96	76,58	50,54	77,26	74,13	81,20	65,34	96,09
Sulfadiazin	57,47	54,03	52,74	47,80	62,81	66,17	67,44	61,82	90,77
Sulfamethoxazol	78,63	81,96	73,93	44,78	76,16	89,70	94,22	90,39	99,12
Sulfathiazol	60,74	53,76	46,08	49,98	68,59	78,75	77,83	73,23	93,92
Sulfamerazin	55,90	48,40	45,27	38,85	54,47	60,93	58,48	54,20	86,30
Sulfamethazin	55,58	44,39	39,26	44,48	52,48	63,73	48,81	37,97	77,37

Zhodnocení 3 denního testu:

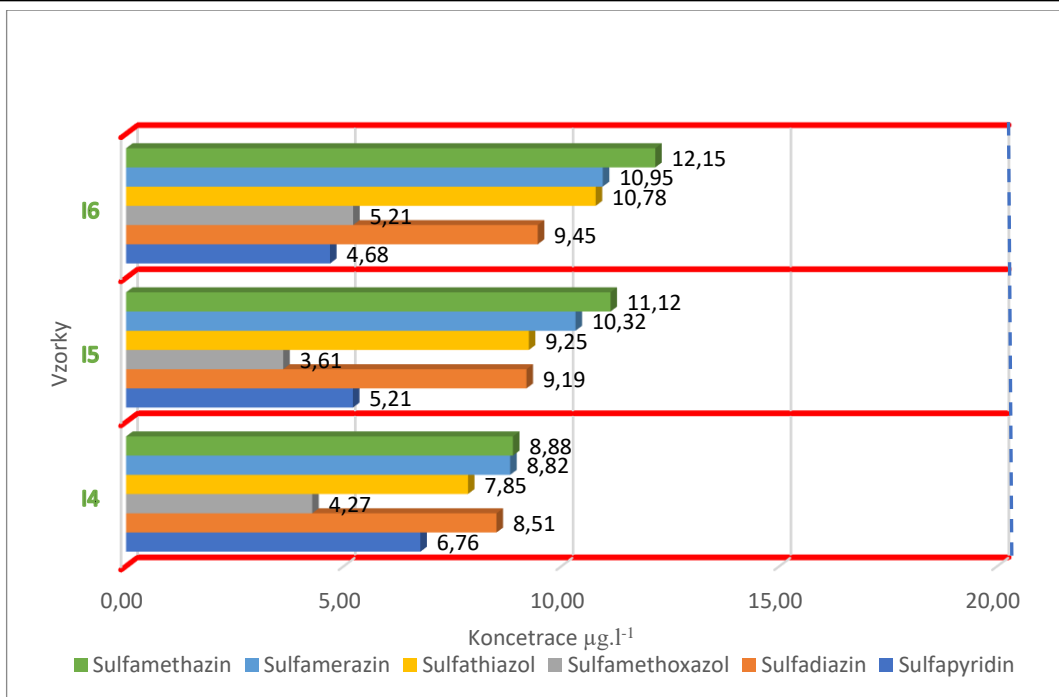
Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo opět dosaženo u Sulfamethaxazolu kde hodnoty dosáhly na 78,18 % odstranění této látky ze vzorku, a to u všech vzorků. Nejnižší míru odbouratelnosti vykazovaly sulfonamid Sulfamethazin. Zajímavé je, že kromě Sulfamethaxazolu žádné z látek nepřekročila hranici 70 % naopak všechny látky překročily hranici 40 % s výjimkou Sulfamethazinu u vzorku I6, kde hodnota dosáhla 39,26 %. Z hlediska celkového obsahu odbouraných sulfonamidů byl nejúspěšnější vzorek I4, přičemž průměrná hodnota na vzorek byla 59 %. Průměrně eliminované množství činilo 61,7 µg.l⁻¹ všech sulfonamidových antibiotik.

Tabulka 19 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ po 3 dnech

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	I 4	I 5	I 6	I 4	I 5	I 6	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	66,22	73,96	76,58	6,76	5,21	4,68	72,25	5,39	14,45
Sulfadiazin	57,47	54,03	52,74	8,51	9,19	9,45	54,74	2,45	10,95
Sulfamethoxazol	78,63	81,96	73,93	4,27	3,61	5,21	78,17	4,03	15,63
Sulfathiazol	60,74	53,76	46,08	7,85	9,25	10,78	53,53	7,33	10,71
Sulfamerazin	55,90	48,40	45,27	8,82	10,32	10,95	49,86	5,46	9,97
Sulfamethazin	55,58	44,39	39,26	8,88	11,12	12,15	46,41	8,35	9,28
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů	62,42	59,42	55,64	74,91	71,30	66,77			61,71
Σ	59,16			%					



Obrázek 59 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ jednotlivých antibiotik po 3 dnech



Obrázek 60 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ po 3 dnech

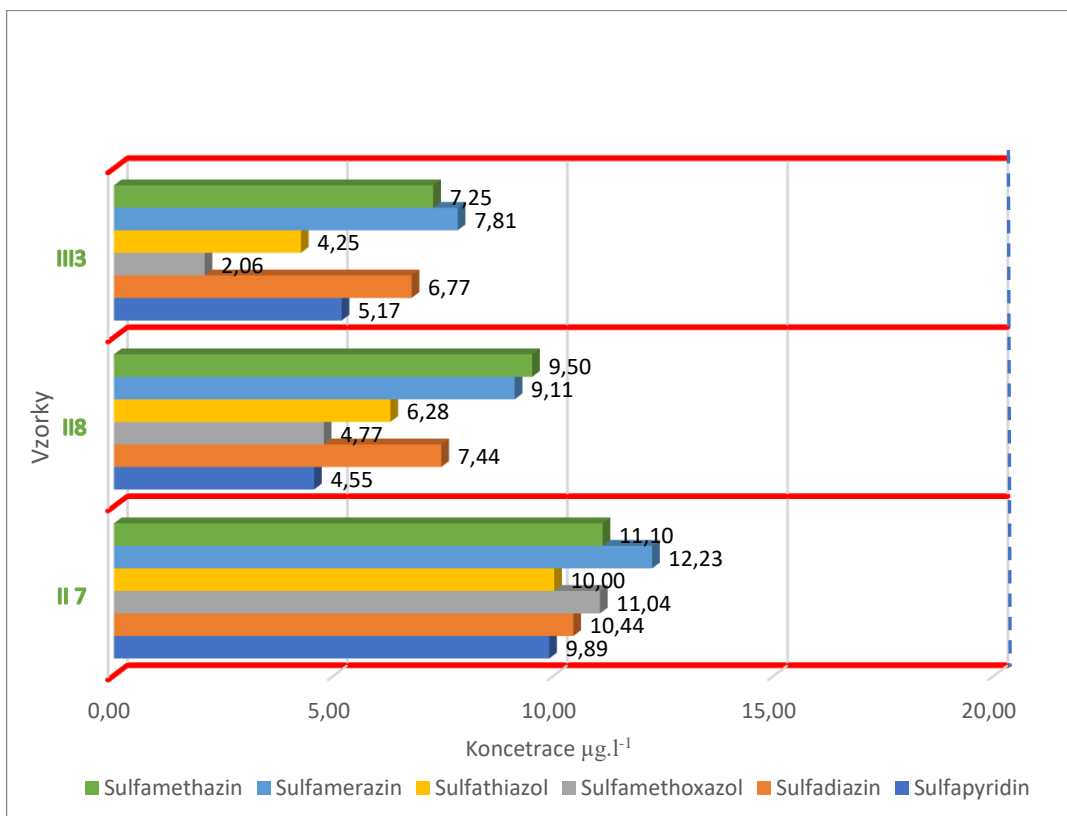
Zhodnocení 5 denního testu:

Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo opět dosaženo u Sulfamethaxazolu, kde hodnoty v průměru dosáhly na 70,21 % odstranění této látky, což je méně, než byl průměr v případě odbourávání po třech dnech. Nicméně jak je patrné z tabulky níže, vzorek II7 v míře odstraňování vykazoval výrazně nižší hodnoty u všech testovaných sulfonamidů. Například ve srovnání se vzorky II8 a III3 jeho hodnoty v případě Sulfamethaxazolu dokonce nepřekročily ani hranici 50 % naopak vzorek III3 dosáhl až téměř na hranici 90 %. Je tedy jasné, že průměrné výsledky u tohoto testování budou výrazně ovlivněny právě nízkými hodnotami vzorku II7. Zde je i namísto zmínit, že vzorek II7 po ukončení fruktifikace vykazoval ze všech vzorků ze souboru II nejvyšší pH a to 8,20, pro srovnání pH II8 bylo 7,9 a III3 dokonce jen 7,67.

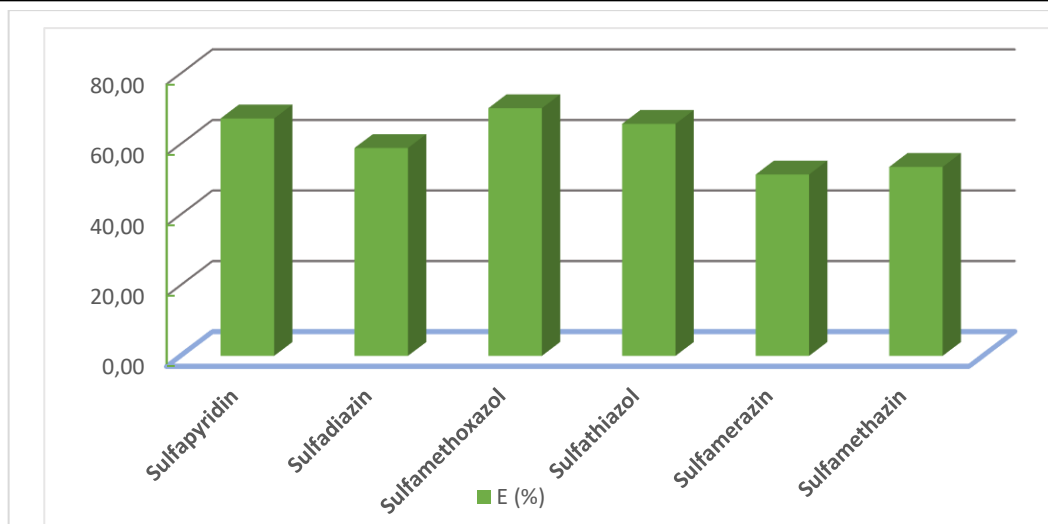
Nejnižší míru odbouratelnosti vykazovaly sulfonamid Sulfamerazin, u něhož průměrná míra odbourání činila 51,42 %. Hranici 70 % opět v průměru překročil pouze Sulfamethoxazol. Všechny látky však v průměru překročily hranici 50 %. Z hlediska celkového obsahu odbouraných sulfonamidů byl nejúspěšnější vzorek III3, přičemž průměrná hodnota na vzorek byla 61 %. Průměrně eliminované množství činilo 62,73 $\mu\text{g.l}^{-1}$ všech sulfonamidových antibiotik.

Tabulka 20 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ po 5 dnech

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	II 7	II 8	III 3	II 7	II 8	III 3	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	50,54	77,26	74,13	9,89	4,55	5,17	67,31	14,60	13,46
Sulfadiazin	47,80	62,81	66,17	10,44	7,44	6,77	58,93	9,78	11,79
Sulfamethoxazol	44,78	76,16	89,70	11,04	4,77	2,06	70,21	23,04	14,04
Sulfathiazol	49,98	68,59	78,75	10,00	6,28	4,25	65,77	14,59	13,15
Sulfamerazin	38,85	54,47	60,93	12,23	9,11	7,81	51,42	11,35	10,28
Sulfamethazin	44,48	52,48	63,73	11,10	9,50	7,25	53,56	9,67	10,71
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů	46,07	65,29	72,23	55,29	78,35	86,68			62,73
Σ	61,20			%					



Obrázek 61 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 µg.l⁻¹ po 5 dnech



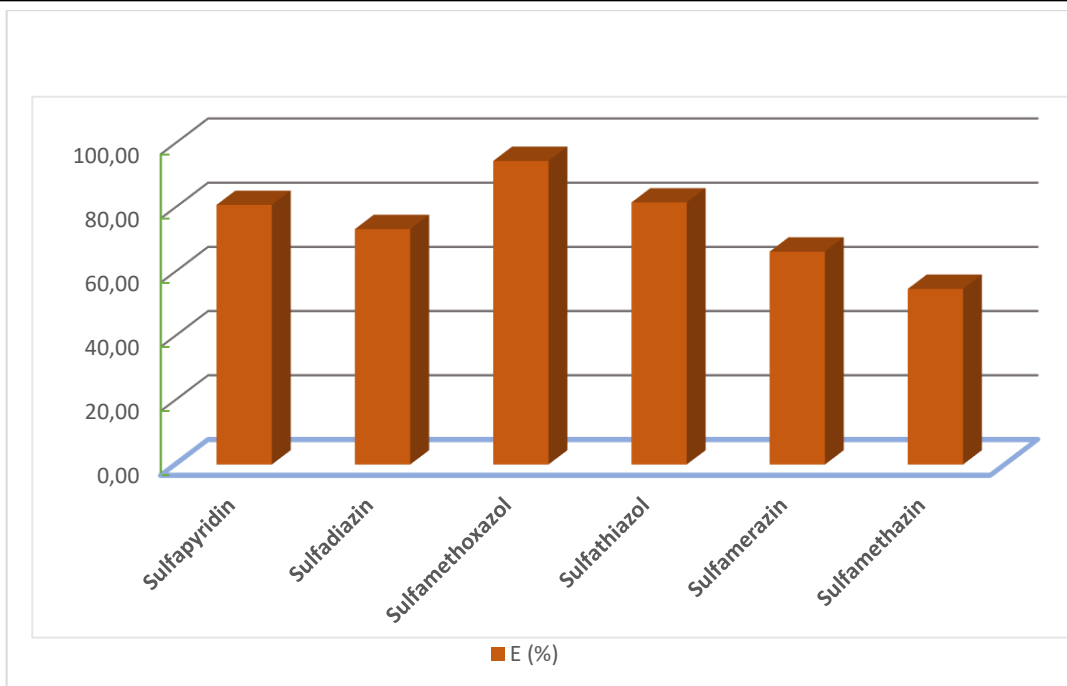
Obrázek 62 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ jednotlivých antibiotik po 3 dnech

Zhodnocení 7 denního testu:

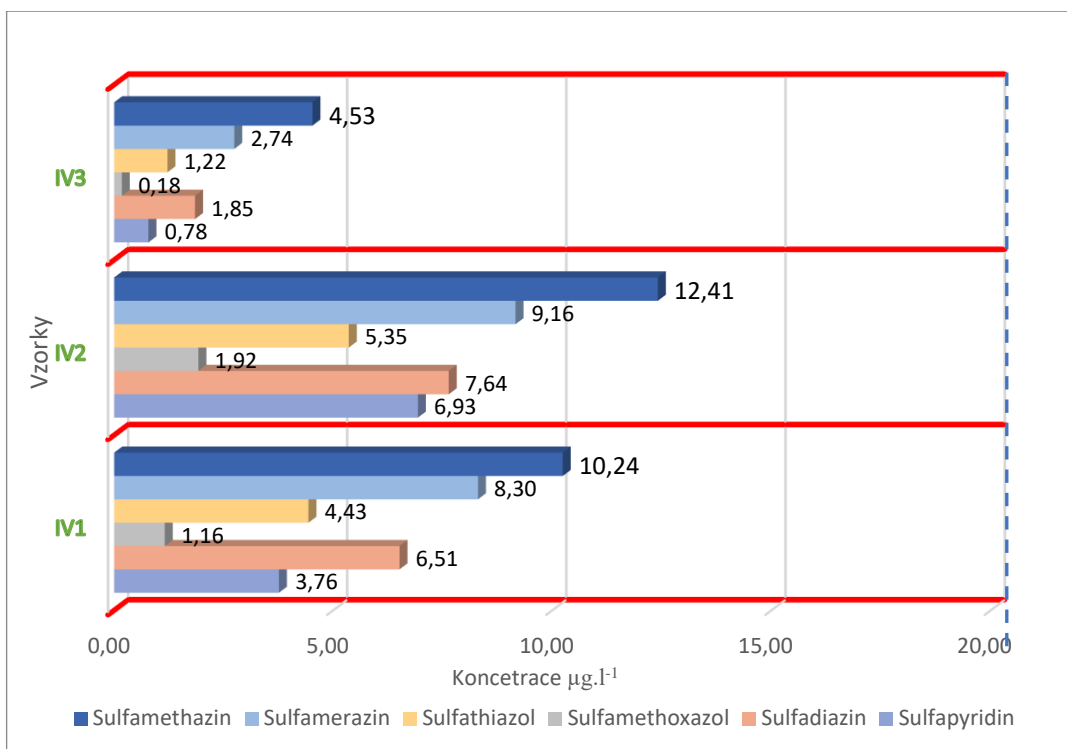
Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo opět dosaženo u Sulfamethaxazolu, kde hodnoty v průměru dosáhly na 94,58 % odstranění této látky, u všech vzorků. Nejnižší míru odbouratelnosti vykazovaly sulfonamid Sulfamethazin, u něhož průměrná míra odbourání činila 51,42 %. Všechny látky v průměru překročily hranici 50 %. Z hlediska celkového obsahu odbouraných sulfonamidů byl nejúspěšnější vzorek IV3, kde došlo k odbourání 90 % celkového obsahu sulfonamidu ve vzorku, přičemž průměrná hodnota na vzorek byla 75,25 %. Vzorek IV3 překročil hranici 90% odbourání dokonce hned u 4 látek a to Sulfapyridinu, Sulfadiazinu, Sulfamethaxazolu a Sulfathiazolu, taktéž v případě Sulfamerazinu a Sulfathiazolu dosáhl velmi výrazně vyšších hodnot než vzorky IV1 a IV2. Vstupní pH vzorku IV3 po ukončení fruktifikace bylo 3. Vzorky IV1 a IV2 měly vstupní pH 7 a 8. Průměrně eliminované množství činilo 79,36 µg.l⁻¹ všech sulfonamidových antibiotik na vzorek.

Tabulka 21 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ po 7 dnech

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	IV1	IV2	IV3	IV1	IV2	IV3	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	81,20	65,34	96,09	3,76	6,93	0,78	80,88	15,38	16,18
Sulfadiazin	67,44	61,82	90,77	6,51	7,64	1,85	73,34	15,35	14,67
Sulfamethoxazol	94,22	90,39	99,12	1,16	1,92	0,18	94,58	4,38	18,92
Sulfathiazol	77,83	73,23	93,92	4,43	5,35	1,22	81,66	10,87	16,33
Sulfamerazin	58,48	54,20	86,30	8,30	9,16	2,74	66,33	17,43	13,27
Sulfamethazin	48,81	37,97	77,37	10,24	12,41	4,53	54,72	20,36	10,94
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů	71,33	63,82	90,60	85,60	76,59	108,72			79,36
Σ	75,25			%					



Obrázek 63 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ jednotlivých antibiotik po 7 dnech



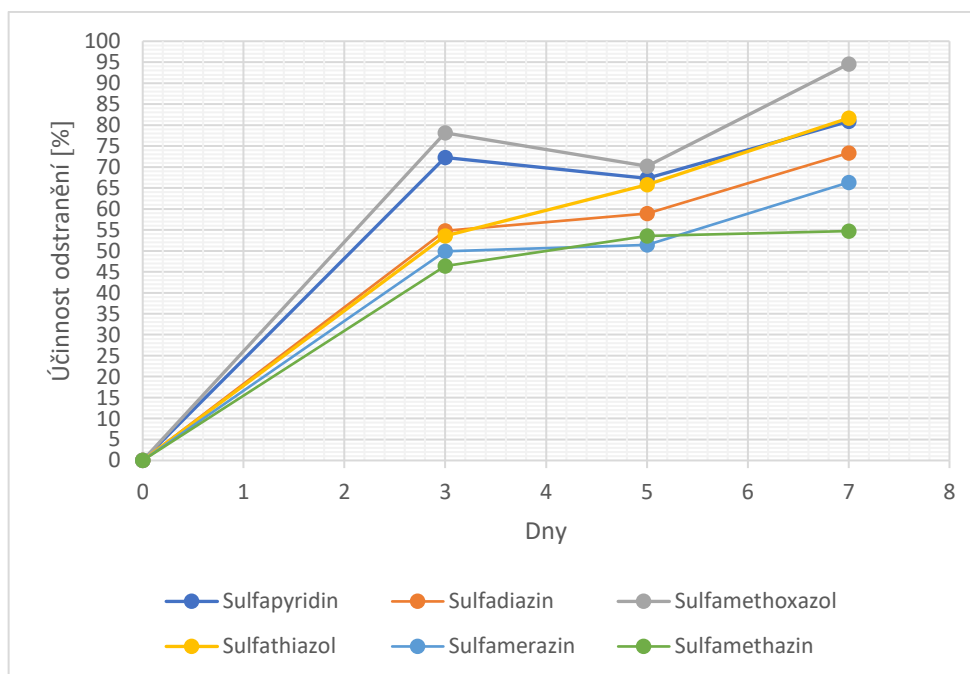
Obrázek 64 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ po 7 dnech

Účinnosti eliminace sulfonamidových antibiotik v závislosti na době trvání při koncentraci 20 µg.l⁻¹

Na základě průměrných hodnot účinnosti eliminace po 3,5 a 7 dnech byla sestavena časová závislost odbourávání při vstupních hodnotách koncentrace 20 µg.l⁻¹ každého analytu. Z grafického znázornění je patrné, že nejlépe byl odbouráván Sulfamethoxazol, a to i rámci průměrných hodnot jako jediný překročil hranici 90 % nejhůře pak Sulfamethazin. U Sulfapyridinu, Sulfamethaxazolu můžeme pozorovat, že průměrné hodnoty po 5 dni poklesnou oproti hodnotám po 3 dnu, přičemž po 7 dnu se opět hodnoty navýší i oproti výsledkům ze třetího dne. Z údajů taktéž jasně vyplývá, že během prvních 3 dnů je dosaženo z hlediska účinnosti největšího progresu a v dalších zbývajících dnech je vyšší míry odbourávání dosaženo pouze u Sulfathiazolu, jež od 3 do 7 dne navyšuje své hodnoty v průměru o 28,13 %.

Tabulka 22 Srovnání průměrné účinnosti eliminace sulfonamidových antibiotik po 3,5 a 7 denním testu

NÁZEV LÁTKY	Účinnost eliminace E		
	Σ		
	3	5	7
Sulfapyridin	72,25	67,31	80,88
Sulfadiazin	54,74	58,93	73,34
Sulfamethoxazol	78,17	70,21	94,58
Sulfathiazol	53,53	65,77	81,66
Sulfamerazin	49,86	51,42	66,33
Sulfamethazin	46,41	53,56	54,72



Obrázek 65 Časová závislost odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ v kohoutkové vodě

4.2.2 Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 100 µg.l⁻¹

Základní parametry testu:

Koncentrace – 100 µg.l⁻¹ každé látky; Medium: modelová voda-kohoutková voda; Doba trvání testu: 3,5 a 7 dnů, Stáří mycelia: 10 dní. Celkem bylo zpracováno devět vzorků o objemu 250 ml.

Použité fruktifikační soubory: I, II

*Tabulka 23 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 100 µg.l⁻¹*

NÁZEV LÁTKY	VZORKY								
	Soubor II			Soubor II			Soubor I		
	II 1	II2	II3	II4	II5	II6	I1	I2	I3
	3 d	3 d	3 d	5 d	5 d	5 d	7 d	7 d	7 d
míra odstranění v %									
Sulfapyridin	16,82	38,77	20,02	26,72	28,59	41,36	82,88	87,72	88,33
Sulfadiazin	0,00	17,30	20,78	10,18	17,63	36,29	22,05	33,87	41,52
Sulfamethoxazol	0,00	18,48	3,78	24,67	20,47	32,62	99,51	100,00	100,00
Sulfathiazol	0,00	0,00	0,00	0,00	6,24	9,14	46,92	45,55	58,66
Sulfamerazin	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14,78	24,03	22,74
Sulfamethazin	0,00	2,19	3,56	4,33	7,89	24,93	0,06	7,52	14,62

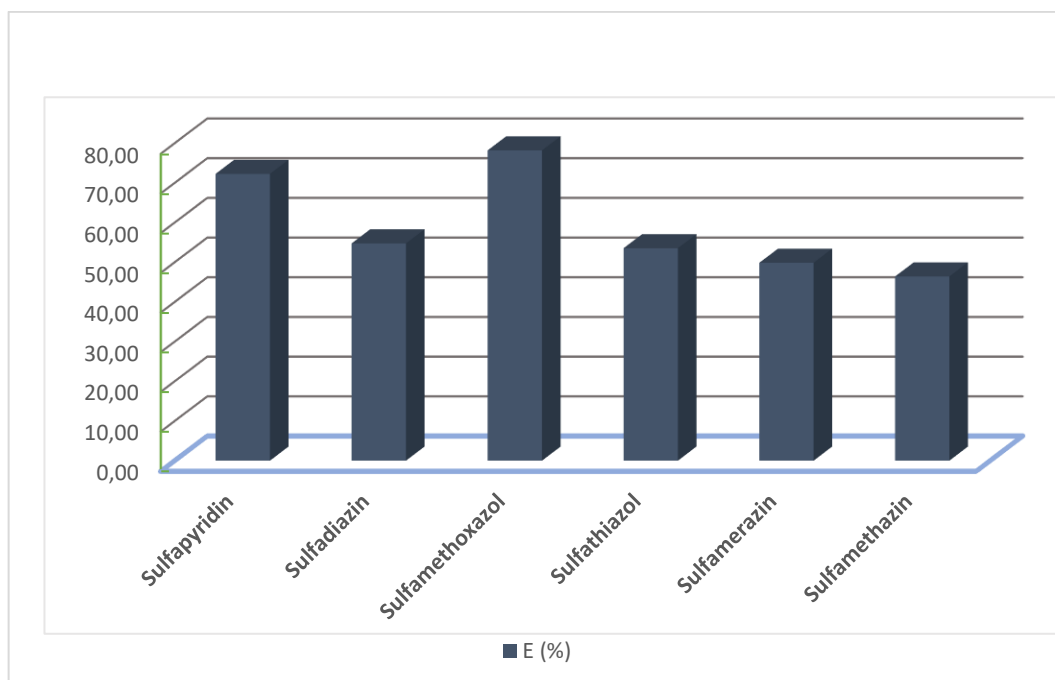
Zhodnocení 3 denního testu:

K eliminaci sulfonamidových antibiotik po třech dnech v koncentraci 100 µg.l⁻¹ bylo dosaženo u tří látek a to Sulfapyridinu, Sulfadiazinu a Sulfamethaxazolu (Sulfamethazin nebyl do hodnot zahrnut, neboť jeho míra odstranění nepřekročila hranici 5 %). Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo dosaženo u Sulfapyridinu, kde v průměru hodnoty dosáhly na 25,20 % odstranění této látky. Nejnižší míru eliminace vykazoval sulfonamid Sulfamethazin, jehož hodnoty nepřesáhly hranici 5 %. Sulfathiazol a Sulfamerazin vykazovaly nulovou míru eliminace.

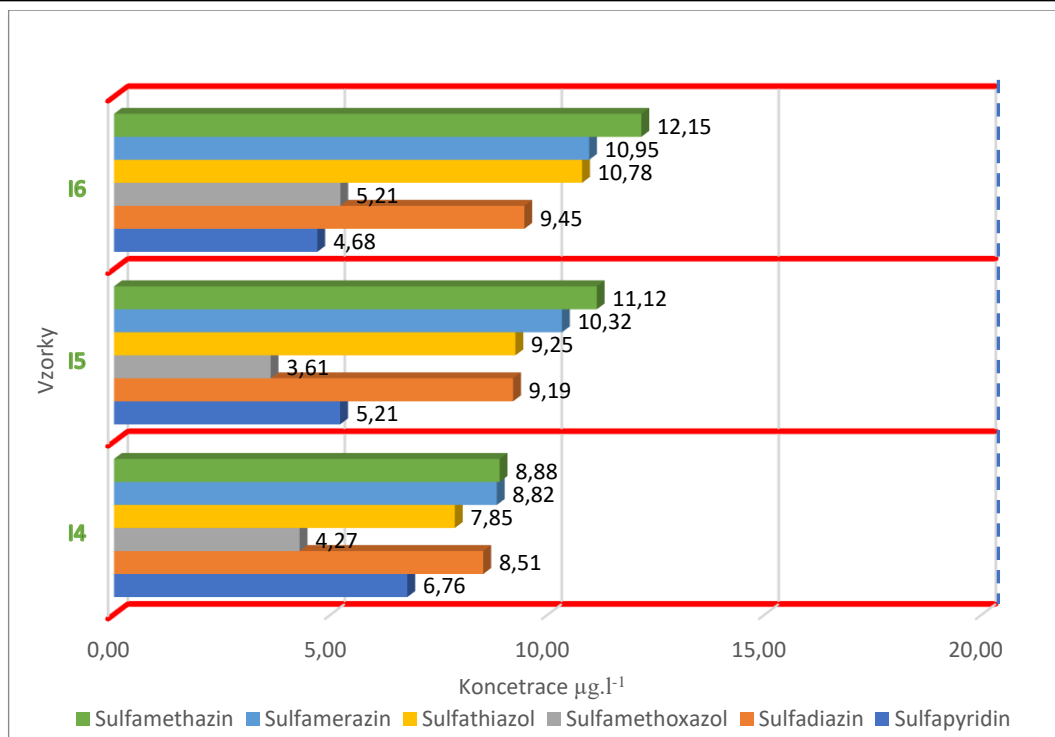
Celkově je vyhodnocení tohoto testu z hlediska průměrných hodnot silně zavádějící, neboť vzorky mezi sebou vykazovaly výrazně odlišné hodnoty, což se také projevilo na výši odchylky, která u Sulfapyridinu a Sulfadiazinu činila až 11 %. Taktéž procentuální vyjádření celkového obsahu odbouraných sulfonamidů u jednotlivých vzorků bylo velmi rozdílné například u vzorku II1 – 2,8 % u vzorku II2 – 12,79 % v průměru pak 7,87%. Průměrně eliminované množství činilo 47,23 µg.l⁻¹ všech sulfonamidových antibiotik.

Tabulka 24 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 100 µg.l⁻¹ po 3 dnech

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	II 1	II2	II3	II 1	II2	II3	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	16,82	38,77	20,02	83,18	61,23	79,98	25,20	11,86	25,20
Sulfadiazin	0,00	17,30	20,78	100,00	82,70	79,22	12,69	11,13	12,69
Sulfamethoxazol	0,00	18,48	3,78	100,00	81,52	96,22	7,42	9,76	7,42
Sulfathiazol	0,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00
Sulfamerazin	0,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00
Sulfamethazin	0,00	2,19	3,56	100,00	97,81	96,44	1,92	1,79	1,92
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů	2,80	12,79	8,02	16,82	76,74	48,14			47,23
Σ	7,87			%					



Obrázek 66 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 100 µg.l⁻¹ jednotlivých antibiotik po 3 dnech



Obrázek 67 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 100 µg.l⁻¹ po 3 dnech

Zhodnocení 5 denního testu:

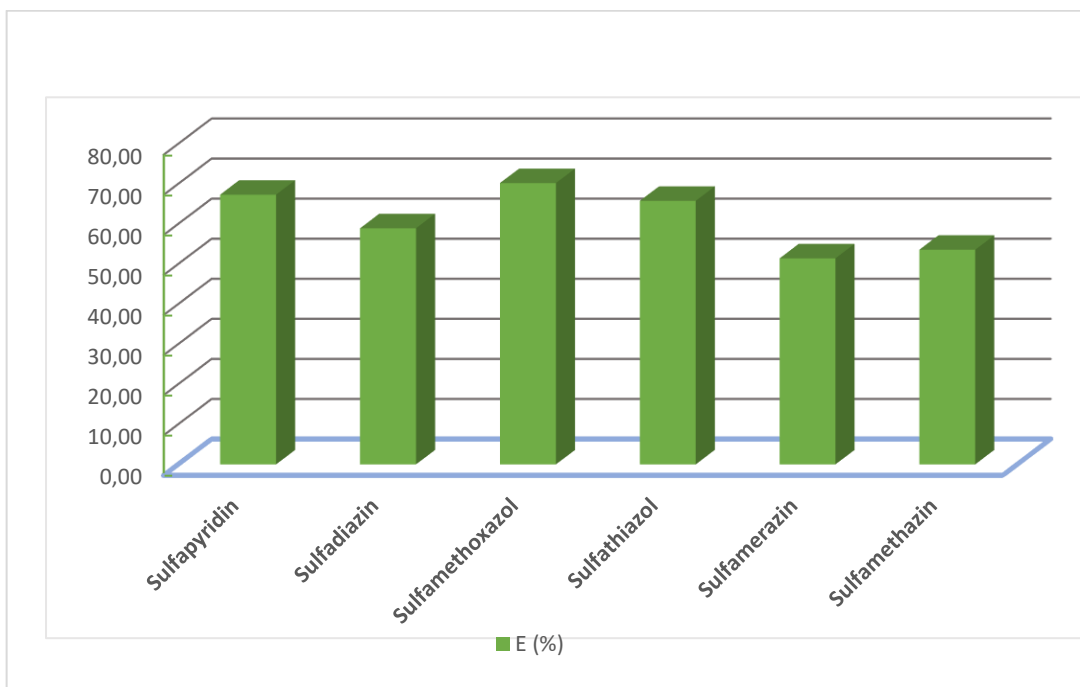
Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo dosaženo u Sulfamethaxazolu, kde v průměru hodnoty dosáhly na 25,92 % odstranění této látky. Nejnížší míru odbouratelnosti vykazoval sulfonamid Sulfathiazol, jehož průměrná hodnota účinnosti eliminace činila 5,13 %. V rámci testu nulové hodnoty eliminace vykázal Sulfamerazin, a to u všech 3 vzorků. Jako nejúspěšnější lze vyhodnotit vzorek II6, kde celkový obsah odbouraných sulfonamidů činil 24,06 %.

Celkově je vyhodnocení tohoto testu z hlediska průměrných hodnot pro některé látky opět zavádějící, neboť například hodnoty Sulfadiazinu a Sulfamethazinu u jednotlivých vzorků mezi sebou vykazovaly výrazně odlišné hodnoty, což se také projevilo na výši odchylky, která u Sulfadiazinu činila až 13,45 % a u Sulfamethazinu 11,01 %. Průměrně eliminované množství činilo 97,02 µg.l⁻¹ všech sulfonamidových antibiotik.

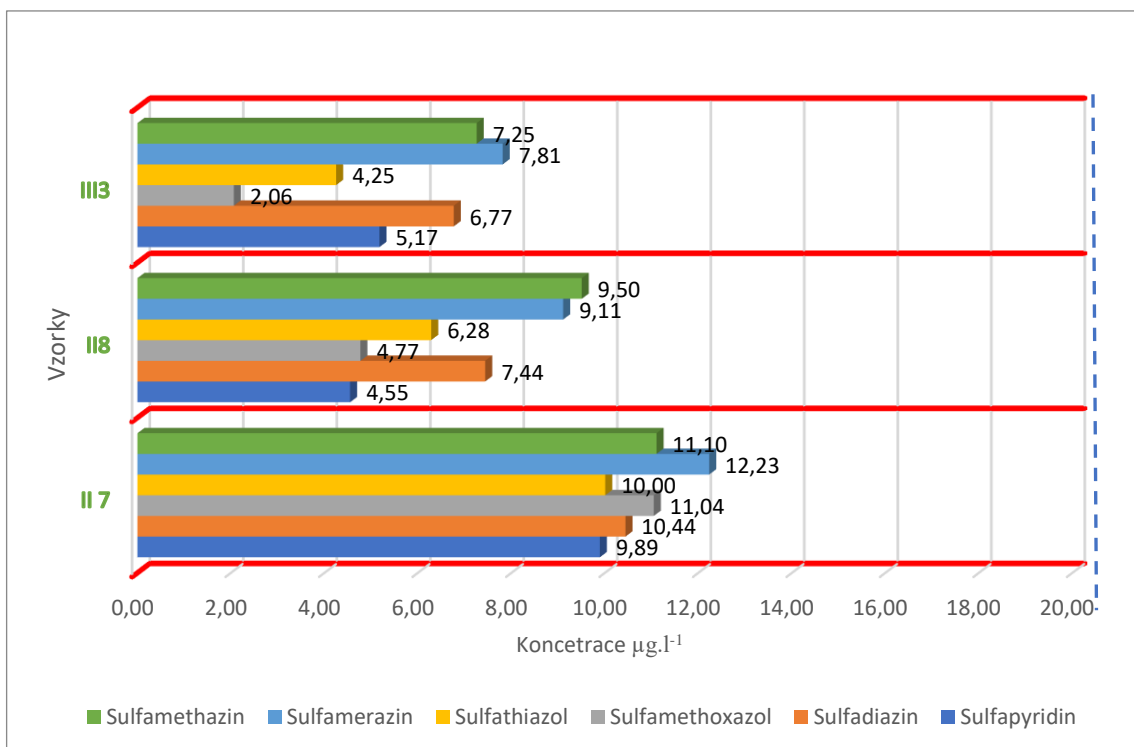
Pro 3 a 5 denní test pro koncentraci 100 µg.l⁻¹ byl použit soubor II. Tento soubor jak během fruktifikace, tak během samotného testování vykazoval výrazné odlišnosti oproti ostatním souborům (viz výše protokol souboru II) a to jak v zápachu, tak vzhledu mycelia, vzorky II1-II3 dokonce nevytvořily kompaktní mycelium během testování. Soubor II byl očkovan až 20 dnů po sběru tedy, zde mohlo mít stáří mateřské plodnice výrazný vliv na nárůst a vlastnosti enzymatického systému.

Tabulka 25 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 100 µg.l⁻¹ po 5 dnech

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	II4	II5	II6	II4	II5	II6	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	26,72	28,59	41,36	73,28	71,41	58,64	32,22	7,97	32,22
Sulfadiazin	10,18	17,63	36,29	89,82	82,37	63,71	21,37	13,45	21,37
Sulfamethoxazol	24,67	20,47	32,62	75,33	79,53	67,38	25,92	6,17	25,92
Sulfathiazol	0,00	6,24	9,14	100,00	93,76	90,86	5,13	4,67	5,13
Sulfamerazin	0,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00
Sulfamethazin	4,33	7,89	24,93	95,67	92,11	75,07	12,38	11,01	12,38
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů	10,99	13,47	24,06	65,91	80,81	144,34			97,02
Σ	16,17			%					



Obrázek 68 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 100 µg.l⁻¹ jednotlivých antibiotik po 5 dnech



Obrázek 69 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 100 µg.l⁻¹ po 5 dnech

Zhodnocení 7 denního testu:

Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo dosaženo u Sulfamethaxazolu, kde v průměru hodnoty dosáhly na 99,84 % odstranění této látky. Nejnižší míru odbouratelnosti vykazoval Sulfamethazin, jehož průměrná hodnota účinnosti eliminace činila 7,40 %, přičemž u vzorku I1 byla úroveň eliminace pouhých 0,06 %. Celkové množství odbouraných antibiotik se v sumarizaci pohybovalo v rozmezí od 44 -54 % a v průměru byla hodnota celkové odbourání 49,49 %. Nejvyšší míry eliminace bylo dosaženo u vzorku I3.

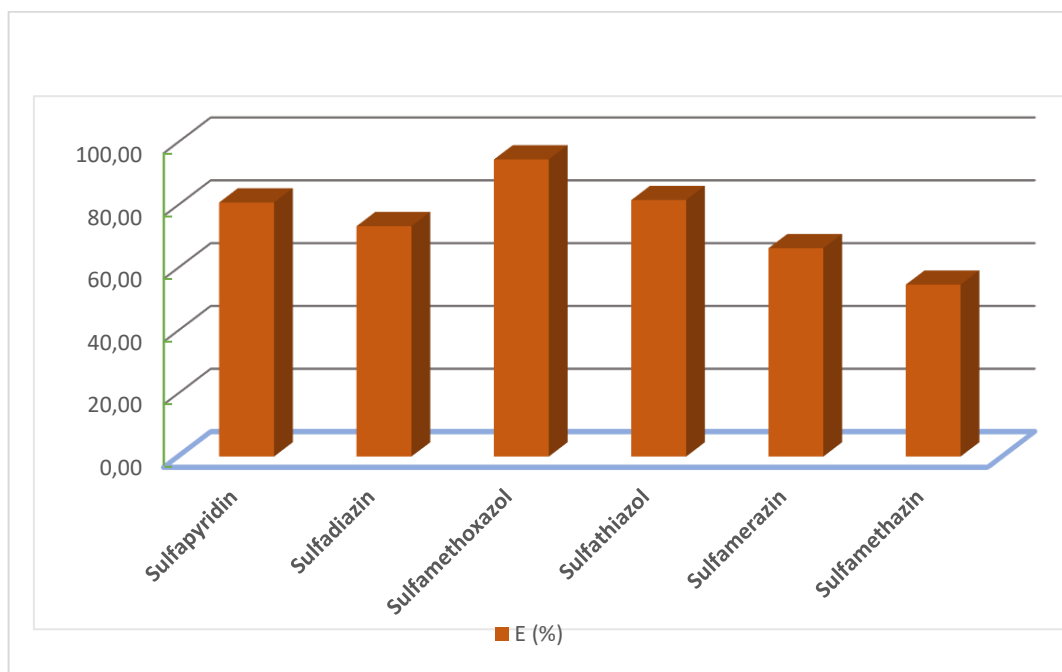
Odchytky v průměrných hodnotách ani v u jedné látky nepřekročily hranici 10 % Průměrně eliminované množství činilo 296,92 µg.l⁻¹ všech sulfonamidových antibiotik.

Při srovnání výsledků 7 denního testu z předcházejícím testování pro 3 a 5 denní test je zde můžeme pozorovat výrazný rozdíl v odbouraném množství jednotlivých látek.

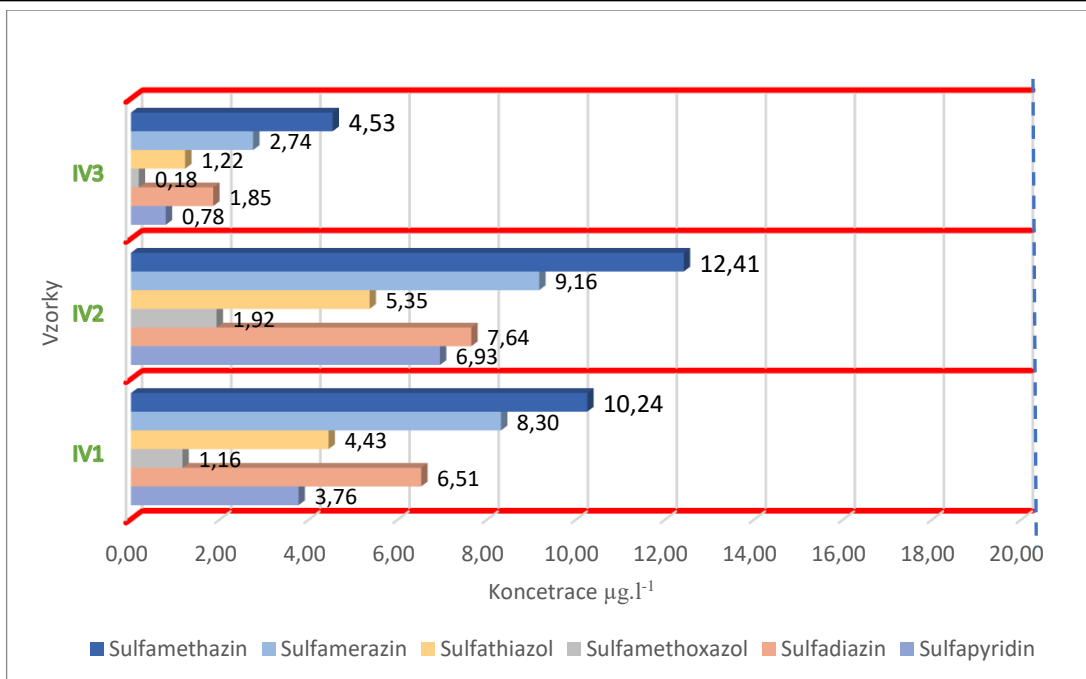
Pro 7 denní test byl vybrán soubor I, staří mateřské plodnice pro tento test byla použita mateřská houba, přičemž inokulace proběhla 3 dny od sběru mateřské houby vzhledem k vysoké účinnosti eliminace z toho můžeme odvodit, že délka doby přechovávání mateřské houby hraje v účinnosti eliminace (kvalitě mycelia a funkci intracelulárního systému) významnou roli.

Tabulka 26 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 100 µg.l⁻¹ po 7 dnech

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	I1	I2	I3	I1	I2	I3	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	82,88	87,72	88,33	17,12	12,28	11,67	86,31	2,98	86,31
Sulfadiazin	22,05	33,87	41,52	77,95	66,13	58,48	32,48	9,81	32,48
Sulfamethoxazol	99,51	100,00	100,00	0,49	0,00	0,00	99,84	0,28	99,84
Sulfathiazol	46,92	45,55	58,66	53,08	54,45	41,34	50,38	7,21	50,38
Sulfamerazin	14,78	24,03	22,74	85,22	75,97	77,26	20,52	5,01	20,52
Sulfamethazin	0,06	7,52	14,62	99,94	92,48	85,38	7,40	7,28	7,40
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů	44,37	49,78	54,31	266,21	298,68	325,88			296,92
Σ	49,49			%					



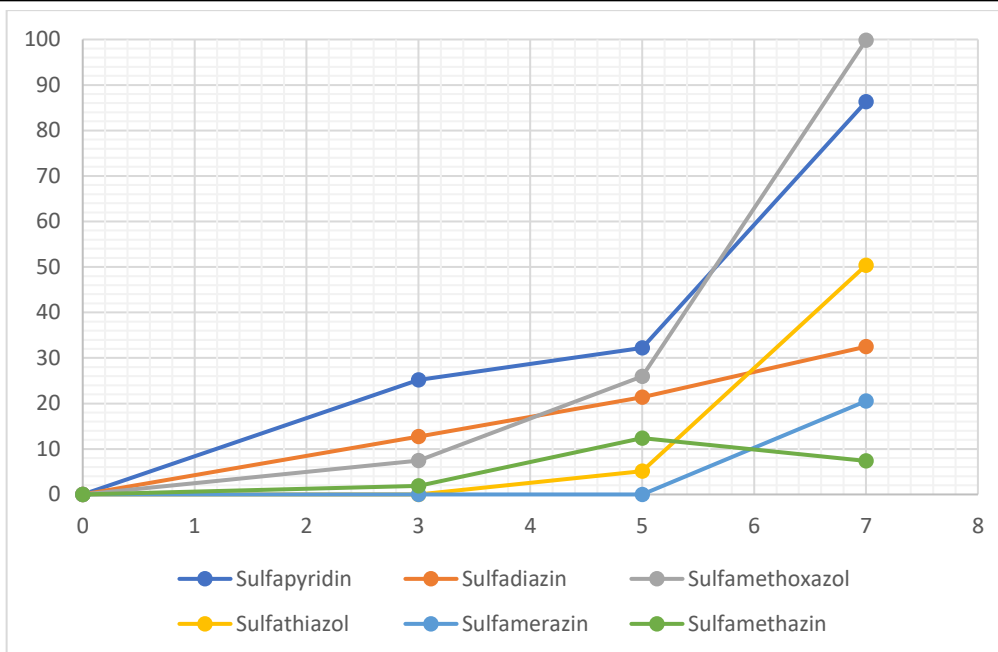
Obrázek 70 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 100 µg.l⁻¹ jednotlivých antibiotik po 7 dnech



Obrázek 71 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 100 µg.l⁻¹ po 7 dnech

Účinnosti eliminace sulfonamidových antibiotik v závislosti na době trvání testu při koncentraci 100 µg.l⁻¹

Vzhledem k výše zmíněným problémům týkajících se porovnání hodnot 3 a 5 denního testu s testem 7 denním vyplývá, že vyhodnocení časové závislosti na základě průměrných hodnot z výsledků je poněkud zavádějící. Ale i pokud bychom tedy ze statistického hlediska soubor II označili jako statisticky méně relevantní z důvodů nekvalitního inokulačního materiálu (vykazující velmi širokou variabilitu výsledků) a rozhodli se časové závislosti sestavovali na základě nejlepší hodnot z tohoto souboru abychom se přiblížili korektnějším hodnotám, které byly pro 3 denní test u vzorku II2 a pro 5 denní test u vzorku II6, lišila by se časová závislost od průměrných hodnot pouze u Sulfamethaxazolu, Sulfapyridinu a Sulfadiazinu a to maximálně o 10 %. Další možností by bylo na základě linearit stanovit rozdílné meze účinnosti u koncentrace 100 µg.l⁻¹ v závislosti na stáří mycelia.



Obrázek 72 Časová závislost odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci $100 \mu\text{g.l}^{-1}$ v kohoutkové vodě porovnání průměrných hodnot

4.2.3 Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 1 mg.l^{-1}

Základní parametry testu:

Koncentrace: 1 mg.l^{-1} každého analytu; Medium: modelová voda-kohoutková voda; Doba trvání testu: 10 dnů; Průběžné odběry prováděny – 1,3 a 7 den testu; Stáří mycelia: 10 dní. Celkem byly zpracovány dva vzorky o objemu 250 ml.

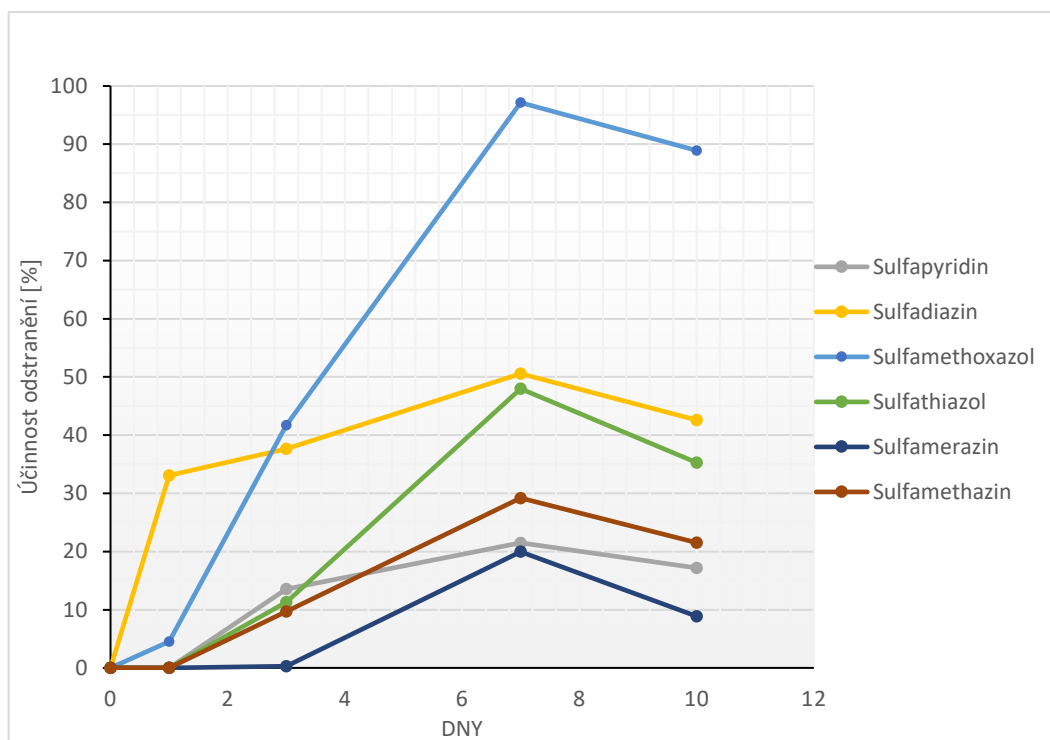
Použitý fruktifikační soubor III.

Tabulka 27 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 1 mg.l^{-1} – vzorek III1

VZOREK		III1		
DEN	1	3	7	10
NÁZEV LÁTKY	odstraněno v %			
Sulfapyridin	0,00	13,56	21,50	17,20
Sulfadiazin	33,07	37,67	50,56	42,60
Sulfamethoxazol	4,53	41,70	97,14	88,94
Sulfathiazol	0,00	11,29	47,97	35,28
Sulfamerazin	0,00	0,27	19,96	8,89
Sulfamethazin	0,00	9,70	29,19	21,54

Tento test byl na rozdíl od předchozích prováděn na jednom stejném vzorku po dobu 10 dní, přičemž ve 3,5 a 7 dnů byl proveden průběžný odběr. Celkově bylo dosaženo nejvyšší eliminace u Sulfamethaxazolu, a to u obou vzorků, kdy hodnota přesáhla hranici 80 %, Nejhorší byl odstranitelný Sulfamerazin. Po prvním dnu došlo k eliminaci Sulfadiazinu a Sulfamethoxazolu. Ve třetím dnu je již možné měřit pozorovat eliminaci u všech sulfonamidů ve třetím dnu také dochází k výraznému

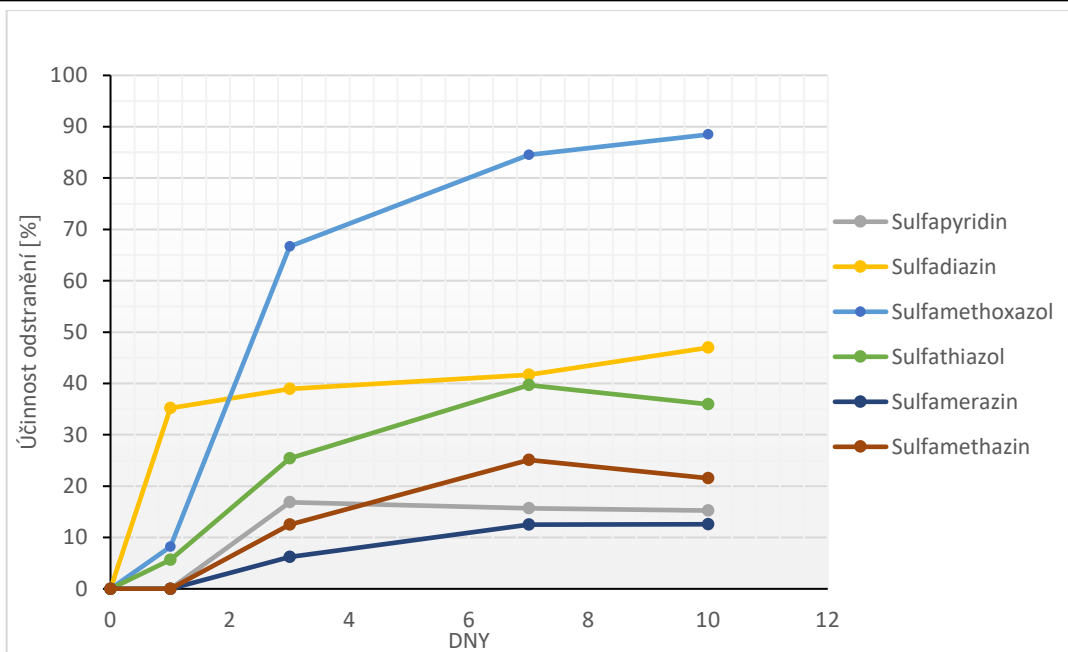
nárustu odbourávání Sulfamethaxazolu u obou vzorků, a to v rozmezí od 35-55 % zatímco u Sulfadiazinu je hodnota navýšena pouze o jednotky procent. V 7 dnu účinnost eliminace dosáhla u vzorku III1 dokonce 97,14 % u vzorku III2 84,52 %. U obou vzorků dochází po 7 dnu k poklesu účinnosti odstranění v případě vzorku III1 došlo k poklesu u všech látek v případě vzorku III2 nebyl pokles tolik výrazný a byl zaznamenán pouze u tří látek. K poklesu v tomto případě dochází pravděpodobně vlivem odumírání mycelia, jež vyčerpalo zásoby polysacharidů a nemá dostatečný přístup vzduchu. Z toho lze i odvozovat, že během metabolického rozkladu dochází k pravděpodobně nejprve k adsorbování látky na mycelium (případně k absorbování) posléze pravděpodobně k rozkladu na meziproducty až poté k absolutnímu rozložení. Po odumření mycelia se tak část těchto látek uvolní zpět do vody.



Obrázek 73 Časový průběh účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 1 mg.l⁻¹ vzorek III1

Tabulka 28 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 1 mg.l⁻¹ – vzorek III2

VZOREK		III2			
DEN		1	3	7	10
NÁZEV LÁTKY		odstraněno v %			
Sulfapyridin		0,00	16,85	15,66	15,25
Sulfadiazin		35,20	38,97	41,66	46,97
Sulfamethoxazol		8,18	66,67	84,52	88,48
Sulfathiazol		5,64	25,39	39,68	35,94
Sulfamerazin		0,00	6,21	12,51	12,58
Sulfamethazin		0,00	12,51	25,10	21,55



Obrázek 74 Časový průběh účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 1 mg.l⁻¹ vzorek III2

4.2.4 Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 2 mg.l⁻¹

Základní parametry testu:

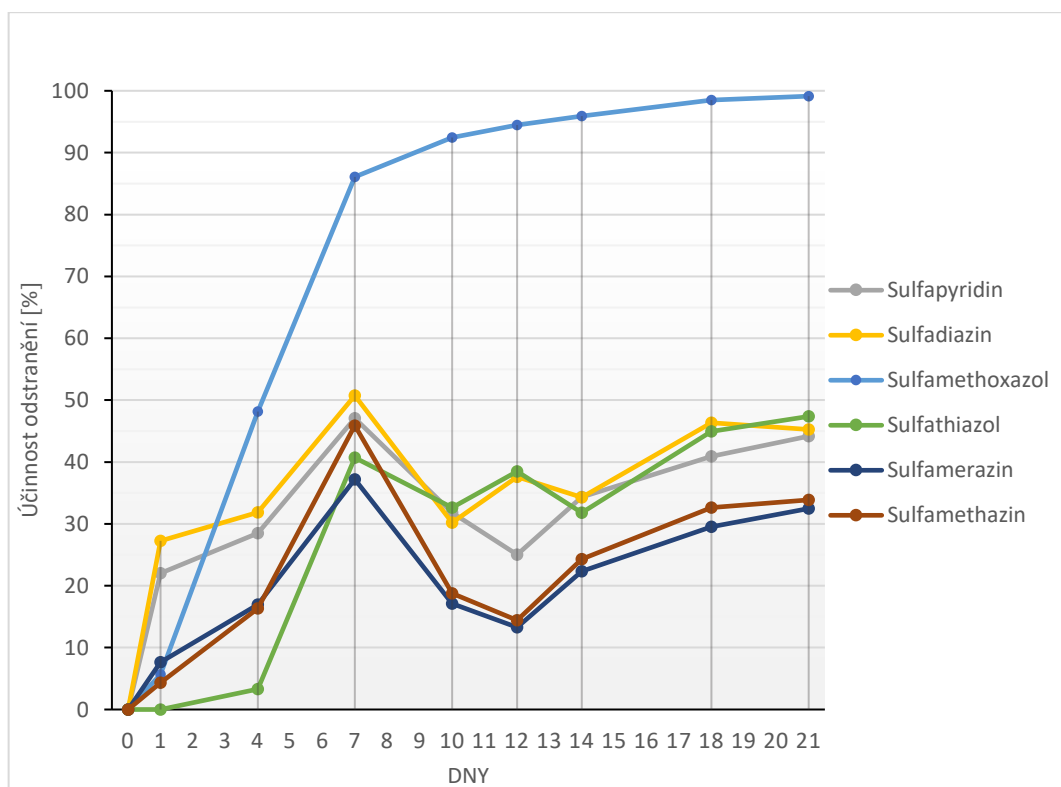
Koncentrace: 2 mg.l⁻¹ každého analytu; Medium: modelová voda-kohoutková voda;
Doba trvání testu: 21 dnů; Průběžné odběry prováděny – 1,4,7,10,12,14,18 a 21 den testu; Stáří mycelia: 10 dní. Celkem byl zpracován jeden vzorek o objemu 250 ml.

Použité fruktifikační soubory I

Tabulka 29 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 2 mg.l⁻¹

Název/Den	1	4	7	10	12	14	18	21
	odstraněno v %							
<i>Sulfapyridin</i>	22,01	28,48	47,07	31,83	25,02	34,35	40,89	44,17
<i>Sulfadiazin</i>	27,28	31,85	50,74	30,23	37,61	34,32	46,35	45,28
<i>Sulfamethoxazol</i>	5,67	48,16	86,08	92,44	94,44	95,90	98,48	99,14
<i>Sulfathiazol</i>	0,00	3,28	40,69	32,63	38,47	31,82	44,94	47,37
<i>Sulfamerazin</i>	7,66	16,95	37,21	17,13	13,29	22,34	29,51	32,49
<i>Sulfamethazin</i>	4,31	16,32	45,91	18,76	14,42	24,31	32,65	33,88
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů mg.l ⁻¹	1,34	2,90	6,15	4,46	4,47	4,86	5,86	6,05
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů %	11,15	24,17	51,28	37,17	37,21	40,51	48,80	50,39

Tento test měl zátěžový charakter a byla pro něj použita 100x vyšší koncentrace, než se vyskytuje v běžných odpadních vodách. Vzorek byl záměrně udržován v konstantních podmínkách bez míchání či provzdušňování po dobu 21 dní. Nejvyšší míra účinnosti se projevila opět u Sulfamethaxazolu, kde během prvních 7 dnů hodnota překonala hranici 80 % a poté se pozvolně přibližovala k hodnotě 100 %. Ostatní léčiva pozvolna opět zvyšovala hodnoty účinnosti až do 7 dne, přičemž se v 7 dnu rozmezí E pohybovalo v rozsahu od 37-51 %. Po prvním dnu se obdobně jako u vzorků s koncentrací 1 mg.l⁻¹ první začíná odbourávat v poměrně vyšších hodnotách Sulfadiazin a přidává se k němu ještě Sulfapyridin. Nenulové hodnoty do 10 % dále vykazují i ostatní látky nulovou míru eliminace vykazuje pouze Sulfathiazol. Ve čtvrtém dni je zřetelný výrazný vzestup hodnot u Sulfamethaxazolu stejně jako v předchozích testech. Po 7 dni dochází k poklesu míru koncentrace pravděpodobně opět zaviněnou spotřebováním zásob polysacharidů a postupným snižováním obsahu kyslíku ve vodě. Mezi 10-12 dnem u některých látek stále dochází k poklesu, ale celkové množství odbouraných sulfonamidů je na stejných hodnotách. Po 12 dnu začíná souhrnná hodnota eliminace stoupat, jak celkově, tak z hlediska jednotlivých látek. Dochází také překvapivě k úbytku původně hůře odbouratelného Sulfamerazinu a Sulfamethazinu. Hodnoty pak v dalších dnech opět stoupají. Souhrnně byl celkový obsah odbouraných sulfonamidů 50,39 % tj. 6,05 mg.l⁻¹. Na základě předchozích měření se domnívám, že lepších hodnot bylo dosaženo i díky krátké době přechovávání mateřských plodnic tj. že byl použit vzorek ze souboru I.



Obrázek 75 Časový průběh účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 2 mg.l⁻¹ vzorek I7

4.2.5 Vyhodnocení testu s počáteční koncentrací 20 µg.l⁻¹ v odpadní vodě

Základní parametry testu:

Koncentrace: 20 µg.l⁻¹ každého analytu; Medium: odpadní voda z ČOV Modřice; Doba trvání testu: 3,5 a 7 dnů; Stáří mycelia: 10 dní. Celkem bylo zpracováno 9 vzorků o objemu 250 ml.

Použité fruktifikační soubory IV, V

*Tabulka 30 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ v odpadní vodě*

NÁZEV LÁTKY	VZORKY								
	Soubor V						Soubor IV		
	V4	V5	V6	V1	V2	V3	IV4	IV5	IV6
	3 d	3 d	3 d	5 d	5 d	5 d	7 d	7 d	7 d
	míra odstranění v %								
Sulfapyridin	74,84	81,96	68,49	76,29	65,71	78,75	74,03	89,54	71,42
Sulfadiazin	75,39	79,48	72,17	82,73	73,85	82,99	79,20	90,87	73,84
Sulfamethoxazol	75,22	84,44	72,49	97,12	94,61	98,46	99,85	99,63	99,91
Sulfathiazol	80,91	87,03	76,32	90,25	81,84	91,50	88,31	88,74	80,98
Sulfamerazin	67,98	78,01	63,17	72,08	59,65	75,47	71,32	73,60	71,23
Sulfamethazin	66,90	79,25	60,74	64,93	52,20	69,90	64,84	84,15	61,71

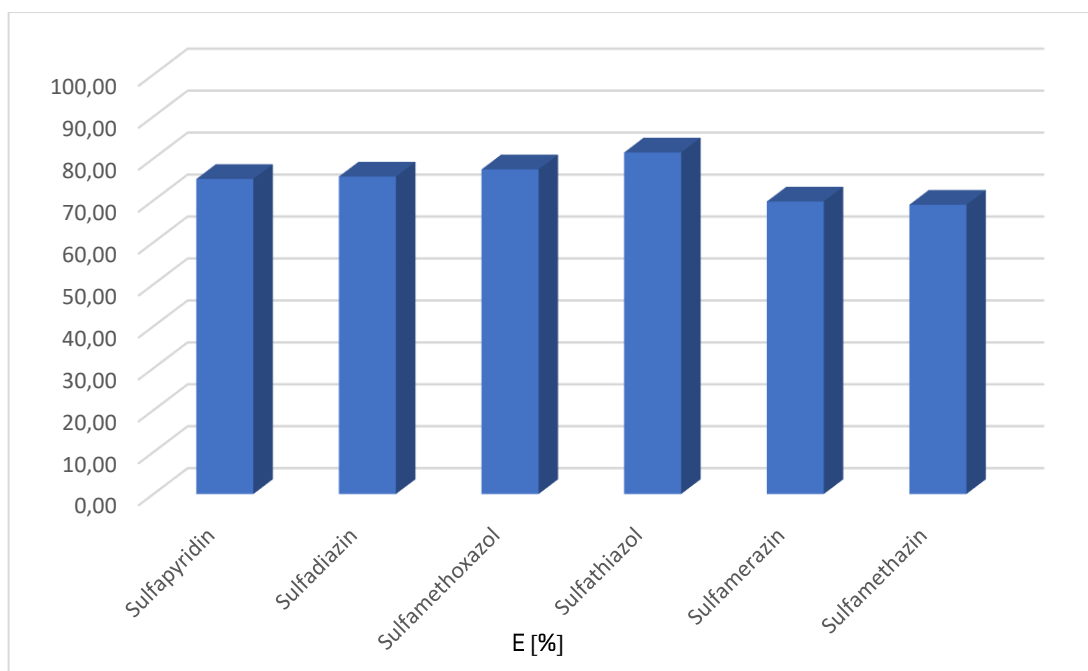
Zhodnocení 3 denního testu:

K eliminaci sulfonamidových antibiotik po třech dnech v koncentraci 20 µg.l⁻¹ bylo dosaženo u všech látek, a to v průměru v rozmezí 60–82 %. Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo dosaženo u Sulfathiazolu, kde v průměru hodnoty dosáhly na 81,42 % odstranění této látky. Nejnižší míru odbouratelnosti vykazovaly sulfonamidy Sulfamethazin a Sulfamerazin, ale i tak byly hodnoty jejich eliminace okolo 68 %.

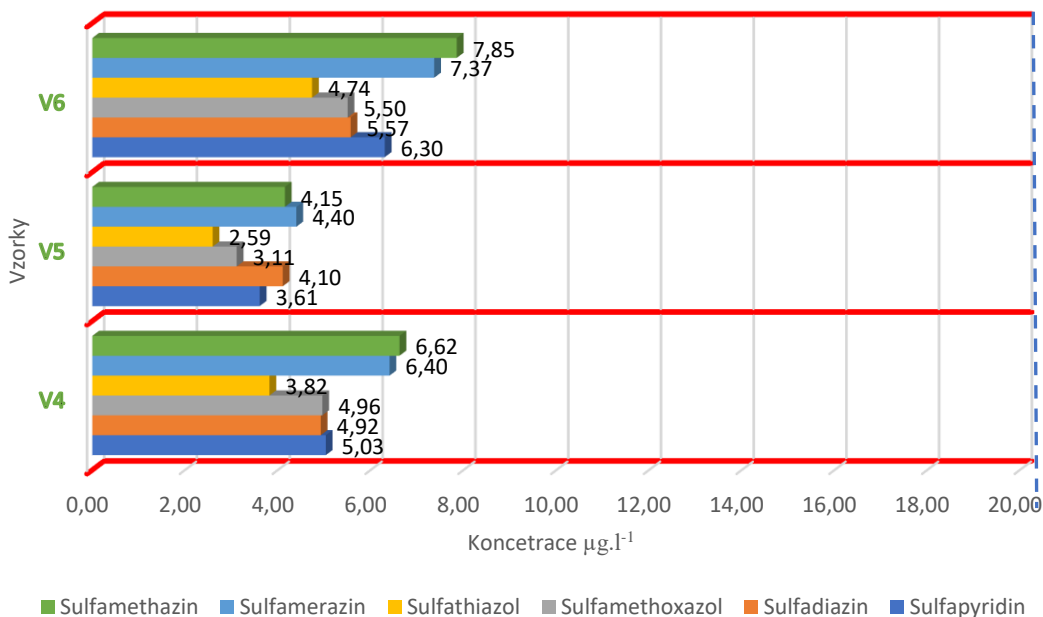
Celkově bylo v testu odbouráno 74,21 % celkového obsahu sulfonamidů, tj. průměrně eliminované množství činilo 75,86 µg.l⁻¹ všech sulfonamidových antibiotik na vzorek. Odchyly v této sérii nepřekročily hranici 10 %. Míra odbourání byla u všech vzorků velmi obdobná jako nejúspěšnější lze vyhodnotit vzorek V5.

Tabulka 31 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ po 3 dnech v odpadní vodě

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	V4	V5	V6	V4	V5	V6	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	74,84	81,96	68,49	5,03	3,61	6,30	75,10	6,74	15,02
Sulfadiazin	75,39	79,48	72,17	4,92	4,10	5,57	75,68	3,66	15,14
Sulfamethoxazol	75,22	84,44	72,49	4,96	3,11	5,50	77,38	6,26	15,48
Sulfathiazol	80,91	87,03	76,32	3,82	2,59	4,74	81,42	5,37	16,28
Sulfamerazin	67,98	78,01	63,17	6,40	4,40	7,37	69,72	7,58	13,94
Sulfamethazin	66,90	79,25	60,74	6,62	4,15	7,85	68,96	9,43	13,79
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů	73,54	81,70	68,89	88,25	98,04	82,67			75,86
Σ	74,71			%					



Obrázek 76 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ jednotlivých antibiotik po 3 dnech v odpadní vodě



Obrázek 77 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ po 3 dnech v odpadní vodě

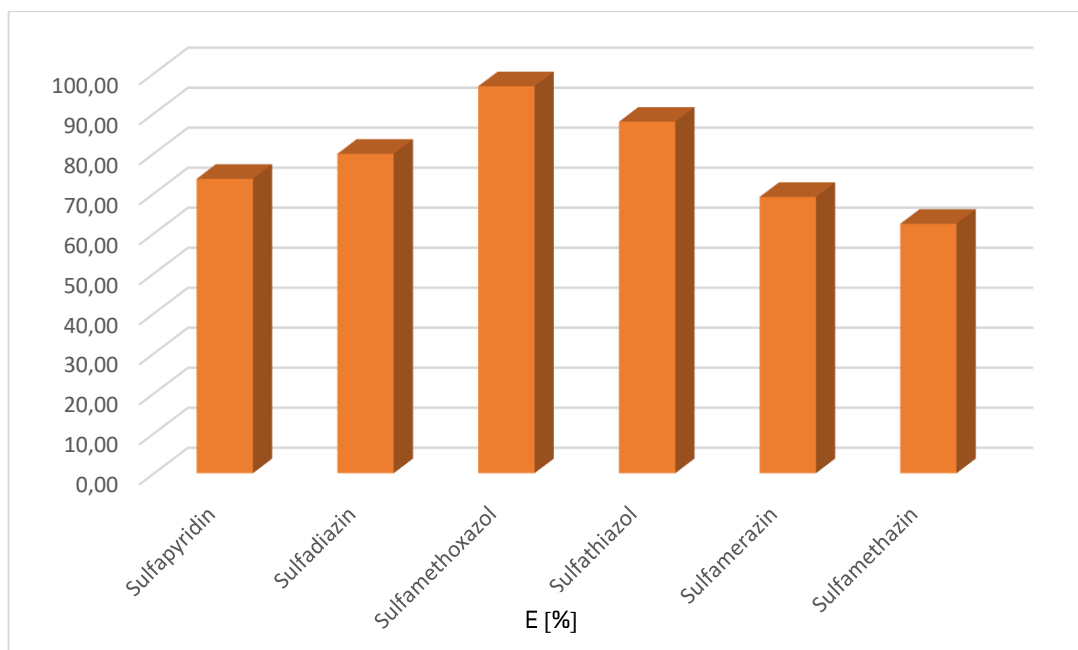
Zhodnocení 5 denního testu:

Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo opět dosaženo u Sulfamethaxazolu, kde hodnoty v průměru dosáhly na 96,73 % odstranění této látky

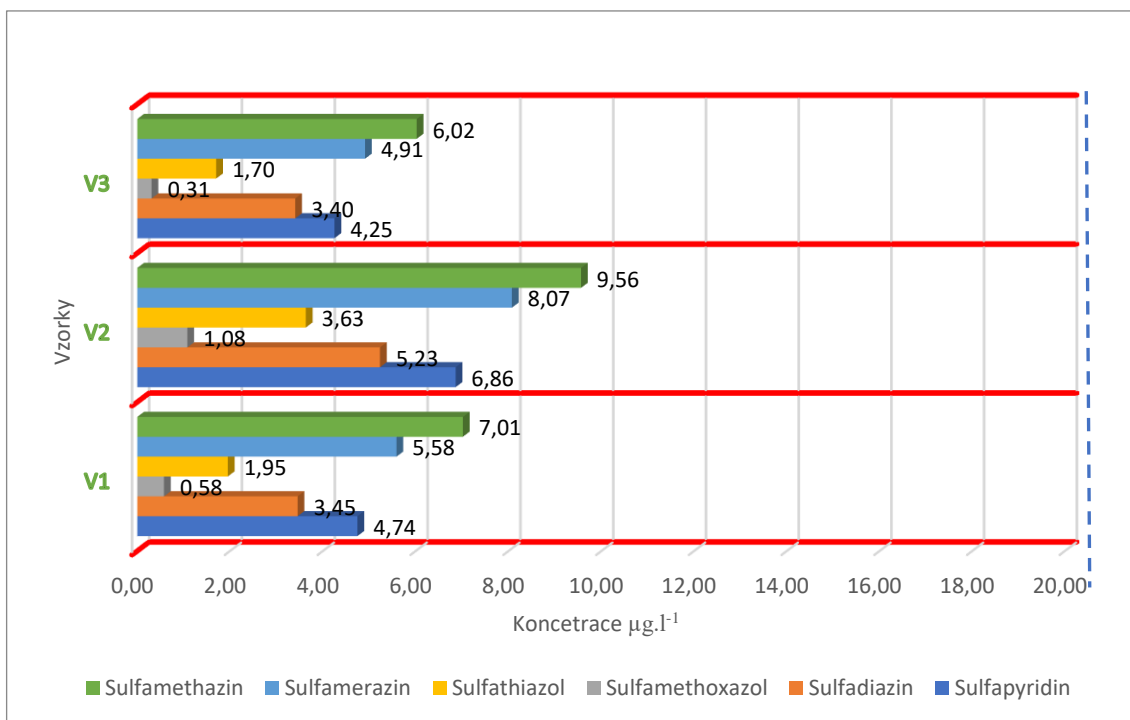
Nejnižší míru odbouratelnosti vykazovaly Sulfamerazin a Sulfamethazin, u nichž průměrná míra odbourání činila 69,06 a 62,34 %. Hranici 90 % v průměru překročil pouze Sulfamethoxazol všechny látky však v průměru překročily hranici 65 %. Z hlediska celkového obsahu odbouraných sulfonamidů byl nejúspěšnější vzorek V3, vzorek V1 však vykazoval pouze o 2% nižší účinnost, přičemž průměrná hodnota na vzorek byla 78,28 %. Odchylka k průměru byla u všech vzorků do 10 %. U vzorku V2 je patrný rozdíl v celkových i jednotlivých látkách po kontrole pH bylo zjištěno, že pro vzorek V2, který můžeme vyhodnotit jako méně úspěšný bylo pH - 6,67 naopak u vzorků V1 a V3 se pH pohybovala až za hranicí 7. Průměrně eliminované množství činilo 81,42 $\mu\text{g.l}^{-1}$ všech sulfonamidových antibiotik na vzorek.

Tabulka 32 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ po 5 dnech v odpadní vodě

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	V1	V2	V3	V1	V2	V3	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	76,29	65,71	78,75	4,74	6,86	4,25	73,58	6,93	14,72
Sulfadiazin	82,73	73,85	82,99	3,45	5,23	3,40	79,86	5,20	15,97
Sulfamethoxazol	97,12	94,61	98,46	0,58	1,08	0,31	96,73	1,95	19,35
Sulfathiazol	90,25	81,84	91,50	1,95	3,63	1,70	87,86	5,25	17,57
Sulfamerazin	72,08	59,65	75,47	5,58	8,07	4,91	69,06	8,33	13,81
Sulfamethazin	64,93	52,20	69,90	7,01	9,56	6,02	62,34	9,13	12,47
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů	80,57	71,31	82,84	96,68	85,57	99,41			81,42
Σ	78,24			%					



Obrázek 78 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ jednotlivých antibiotik po 5 dnech v odpadní vodě



Obrázek 79 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 µg.l⁻¹ po 5 dnech v odpadní vodě

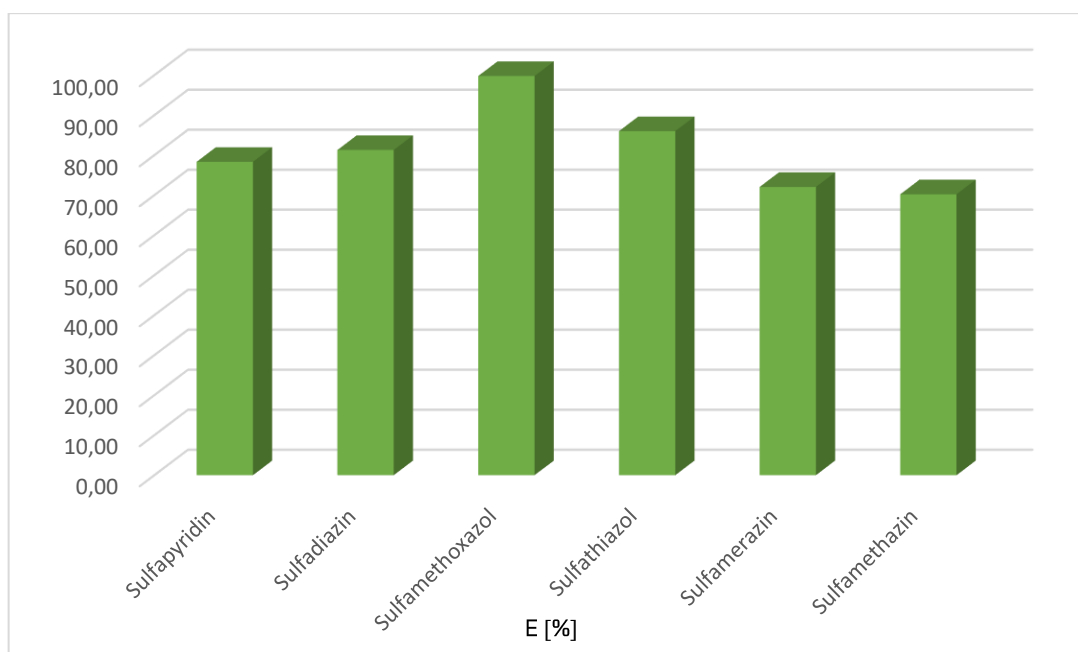
Zhodnocení 7 denního testu:

Nejvyšší účinnosti v odbourání bylo opět dosaženo u Sulfamethaxazolu, kde hodnoty v průměru dosáhly na 99,80 % odstranění této látky

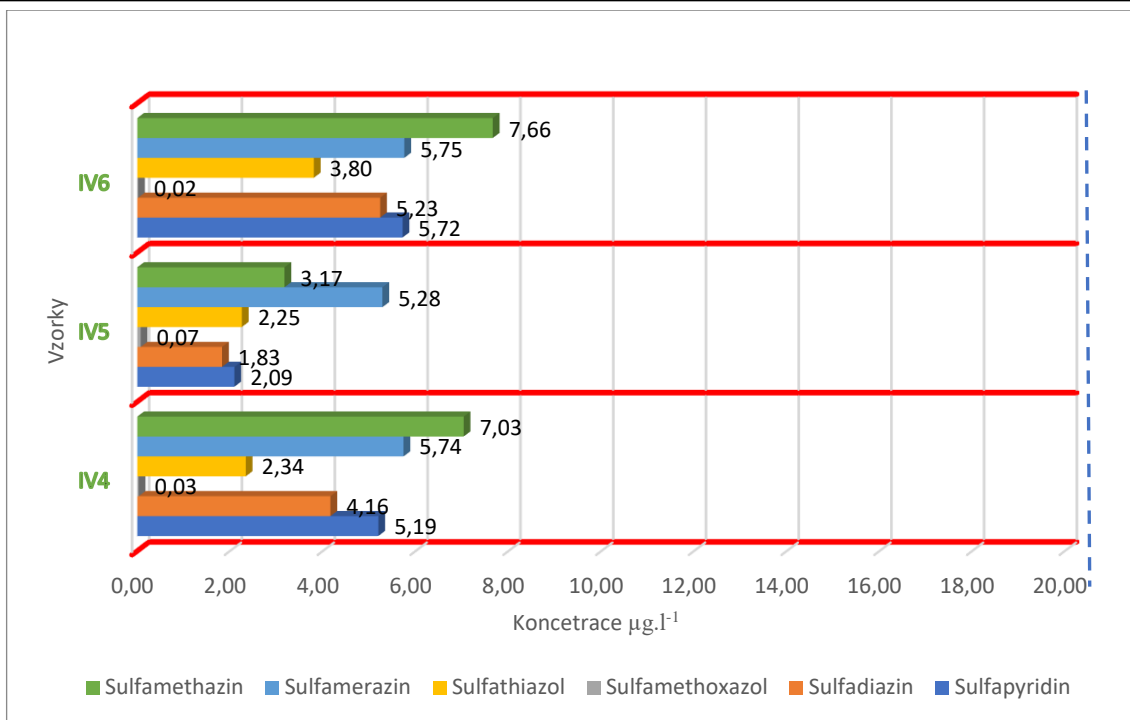
Nejnižší míru odbouratelnosti vykazovaly Sulfamerazin a Sulfamethazin, u nichž průměrná míra odbourání činila 72,05 a 70,23 %. Hranici 90 % v průměru překročil pouze Sulfamethoxazol všechny látky však v průměru překročily hranici 70 %. Z hlediska celkového obsahu odbouraných sulfonamidů byl nejúspěšnější vzorek IV5, jež dosáhl celkového obsahu eliminace 87,75 %, což je téměř 10 % rozdíl oproti vzorkům IV4 a IV6, průměrná hodnota na vzorek byla 81,29 %. Odchylka k průměru byla u všech vzorků kromě Sulfamethazinu do 10 %. Hodnoty Sulfamethazinu, Sulfadiazinu a Sulfapyridinu byly u vzorku IV5 výrazně vyšší než u zbylých dvou vzorků. Po kontrole pH bylo zjištěno, že pro pH se u vzorků lišilo jen velmi mírně, ale během průběžných kontrol bylo zjištěno, že zatímco u vzorku IV4 a IV6 bylo mycelium seskupeno kolem stěn sklenice v případě vzorku IV5 bylo mycelium shluknuté u hladiny a tvořilo kompaktní blánu. Průměrně eliminované množství činilo 81,42 µg.l⁻¹ všech sulfonamidových antibiotik na vzorek.

Tabulka 33 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ po 7 dnech v odpadní vodě

NÁZEV LÁTKY	VZORKY			VZORKY			Účinnost eliminace E		
	IV4	IV5	IV6	IV4	IV5	IV6	Σ		
	míra odstranění v %			koncentrace µg.l ⁻¹			E (%)	S (%)	µg
Sulfapyridin	74,03	89,54	71,42	5,19	2,09	5,72	78,33	9,80	15,67
Sulfadiazin	79,20	90,87	73,84	4,16	1,83	5,23	81,30	8,71	16,26
Sulfamethoxazol	99,85	99,63	99,91	0,03	0,07	0,02	99,80	0,15	19,96
Sulfathiazol	88,31	88,74	80,98	2,34	2,25	3,80	86,01	4,36	17,20
Sulfamerazin	71,32	73,60	71,23	5,74	5,28	5,75	72,05	1,34	14,41
Sulfamethazin	64,84	84,15	61,71	7,03	3,17	7,66	70,23	12,15	14,05
Celkový obsah odbouraných sulfonamidů	79,59	87,75	76,52	95,51	105,30	91,82			83,50
Σ	81,29			%					



Obrázek 80 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ jednotlivých antibiotik po 7 dnech v odpadní vodě



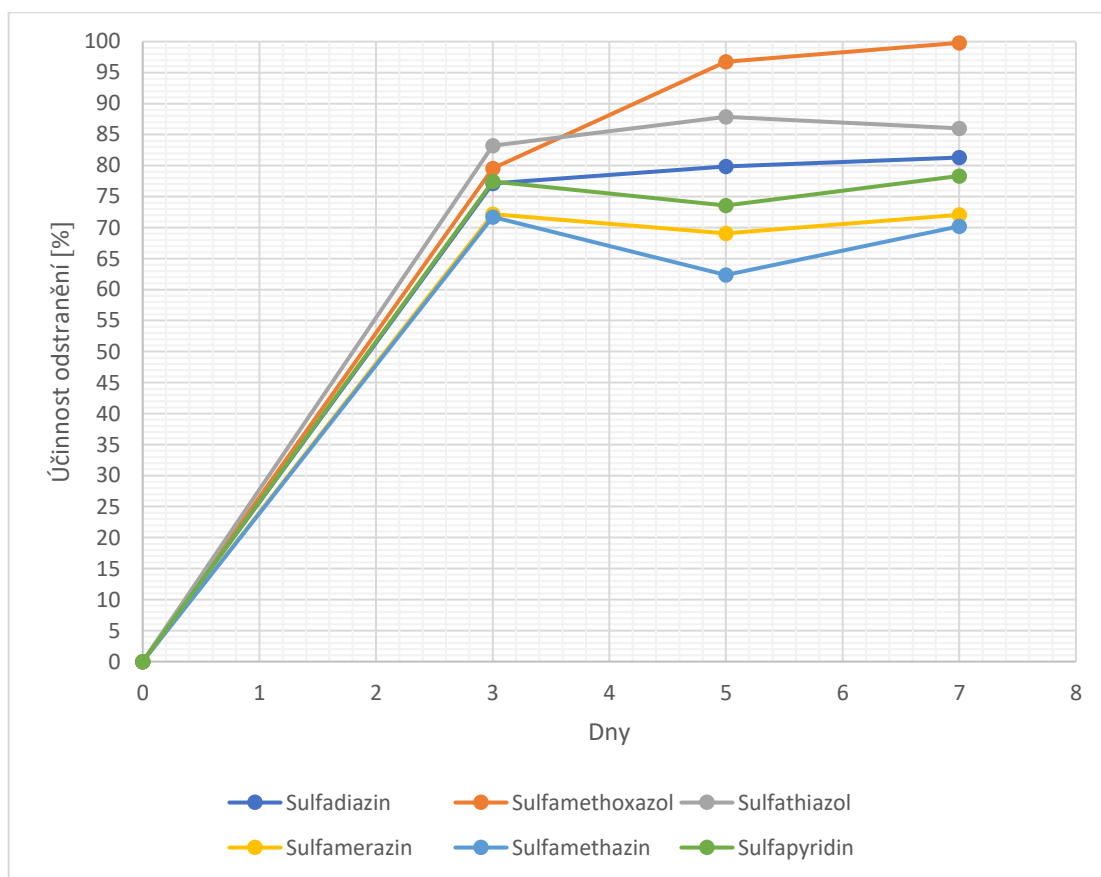
Obrázek 81 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 µg.l⁻¹ po 7 dnech v odpadní vodě

Celkové vyhodnocení účinnosti eliminace sulfonamidových antibiotik z hlediska doby zdržení při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ v odpadní vodě

Na základě průměrných hodnot účinnosti eliminace po 3,5 a 7 dnech byla sestavena časová závislost odbourávání při vstupních hodnotách koncentrace 20 µg.l⁻¹ v odpadní vodě. Z grafického znázornění je patrné, že nejlépe byl odbouráván Sulfamethoxazol, a to i rámci průměrných hodnot jako jediný překročil hranici 90 %, nejnižší účinnost pak byla naměřena u Sulfamethazin. U Sulfapyridinu, Sulfathiazolu a Sulfamerazinu můžeme pozorovat, že průměrné hodnoty po 5 dni poklesnou oproti hodnotám po 3 dnu, přičemž po 7 dnu se opět hodnoty vrátí na přibližně stejnou úroveň výsledků ze třetího dne. Jedinou výjimkou je Sulfathiazol, u nějž došlo k poklesu hodnot mezi 5 až 7 dnem, avšak pouze o necelá 2 %. Při sestavování časové závislosti se používali průměrně hodnoty, tzn. je možné, že tento pokles je způsoben zaokrouhlením hodnot a není v rámci účinnosti směrodatný. Z údajů taktéž jasně vyplývá, že během prvních 3 dnů je v rámci účinnosti dosaženo největšího progresu v dalších zbývajících dnech je vyšší míry odbourávání dosaženo pouze u Sulfamethaxazolu, jež od 3 do 7 dne navyšuje své hodnoty v průměru o 20 %. Účinnost technologie se pro koncentraci 20 µg.l⁻¹ v odpadní vodě uvažuje v rozmezí 60–90 % na látku po 7 dnech.

Tabulka 34 Souhrnný přehled průměrných hodnot účinnosti Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím *Trametes versicolor* při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ v odpadní vodě v 3,5 a 7 dnu

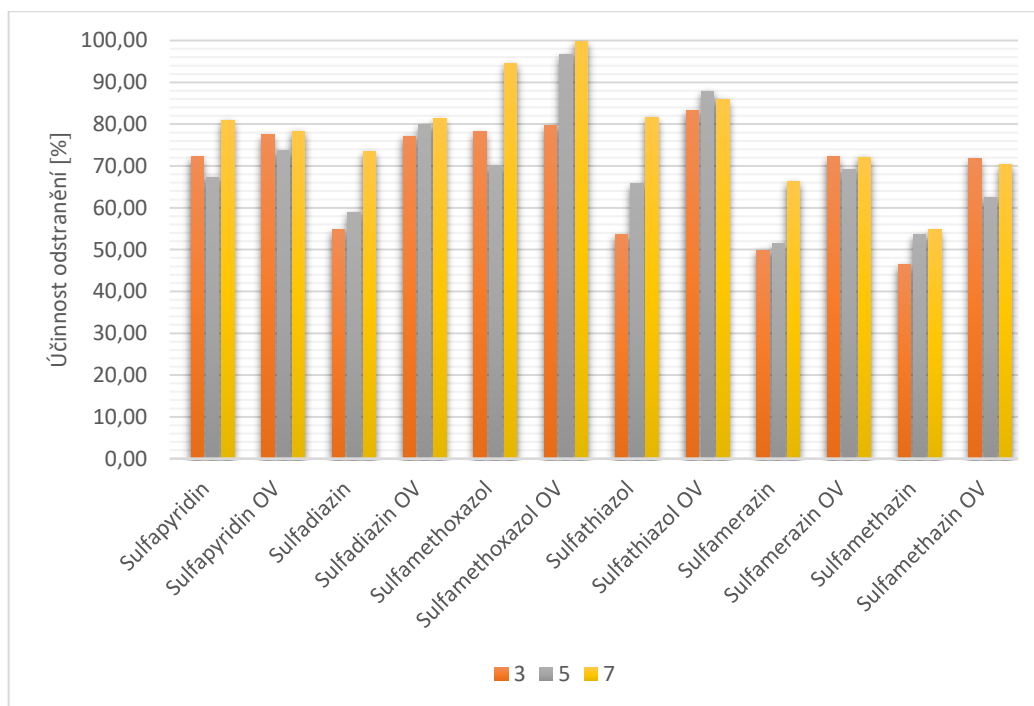
DEN	3	5	7
NÁZEV LÁTKY	E v %		
Sulfapyridin	77,45	73,58	78,33
Sulfadiazin	77,10	79,86	81,30
Sulfamethoxazol	79,57	96,73	99,80
Sulfathiazol	83,24	87,86	86,01
Sulfamerazin	72,16	69,06	72,05
Sulfamethazin	71,72	62,34	70,23



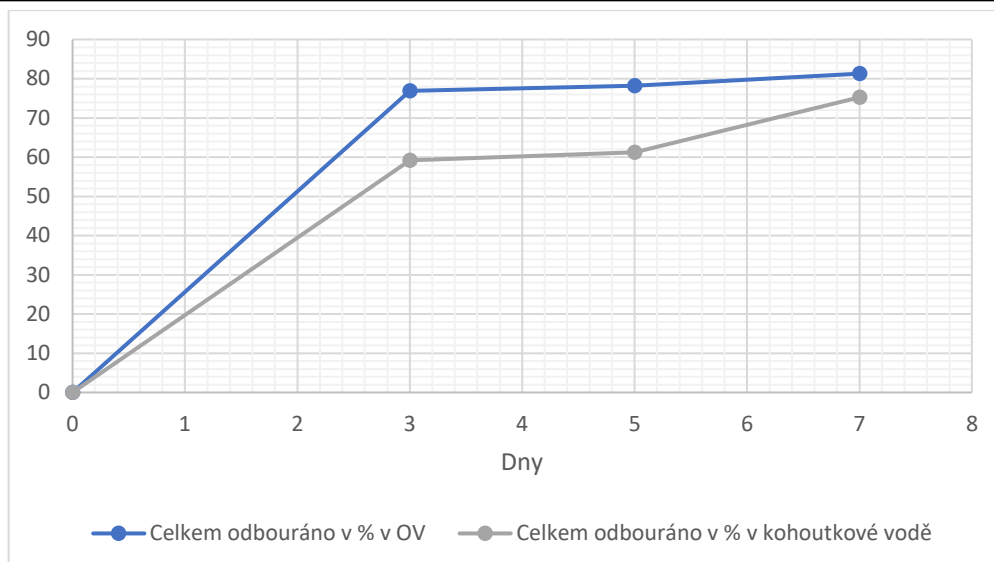
Obrázek 82 Časový průběh účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 20 µg.l⁻¹ v odpadní vodě

4.2.6 Porovnání účinnosti odbourávání v modelové vodě a odpadní vodě

Na základě výsledků setup testu bylo možné provést i porovnání účinnosti při použití rozdílných vzorků vody při stejné koncentraci. Jednalo se o koncentraci 20 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Na níže uvedených grafech je patrné, že z celkového množství odbouraných látek byly zcela zjevně účinnější vzorky odpadní vody (obrázek 104). V případě detailnějšího porovnání jednotlivých analytů je viditelné, že jedinou výjimkou je Sulfapyridinu, jehož míra eliminace v 7 dnu je vyšší v případě kohoutkové vody, nicméně rozdíl zde činí asi 3 % (obr 103). Schopnost *Trametes versicolor* odbourávat sulfonamidy lépe v odpadní vodě je pravděpodobně podmíněná bohatějšími zásobami organických látek především pak polysacharidů, jež poskytují myceliu energii potřebnou pro metabolické procesy ligninolytického intracelulárního systému umožňující rozklad složitějších makromolekulárních látek. Tento princip byl ověřován například přidáváním rozředěného rajčatového protlaku (či rajčatového džusu) v průběhů inokulace nosičů mycelia či dokonce k samotným vzorkům vody během testování [134]. Při porovnání dat je patrné, že přítomnost organických látek ve vodě má za následek vyšší produkci mycelia (tabulka 18), což se odráží i ve zvýšení účinnosti odbourávání. Navýšení je nejlépe pozorovatelné v porovnání výsledků testů ukončených po 3 a 5 dni viz obrázek 103.



Obrázek 83 Porovnání účinnosti odbourávání jednotlivých sulfonamidových antibiotik v kohoutkové a odpadní vodě při vstupní koncentraci 20 $\mu\text{g.l}^{-1}$



Obrázek 84 Grafické porovnání celkové účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik v kohoutkové a odpadní vodě při vstupní koncentraci $20 \mu\text{g.l}^{-1}$

5 Vyvození obecných závěrů a podmínek aplikace dřevokazných hub v oblasti terciálního čištění odpadních vod na komunálních ČOV na základě praktické části dizertační práce

Měření v rámci mé dizertační práce ověřilo fungování technologie v laboratorních podmínkách pouze pro hydrostatické podmínky – určení potenciálu v případě proudící vody či zajištění přístupu vzduchu míchání budou předmětem dalších testů jimiž se budu v budoucnu zabývat.

Rozmezí účinnosti odbourávání této technologie v hydrostatických podmínkách v odpadní vodě při koncentraci do $20 \mu\text{g.l}^{-1}$ při HRT 3-7 dnů je pro:

- Sulfapyridin 67-80 %
- Sulfadiazin 54-81 %
- Sulfamethoxazol 78-99 %
- Sulfathiazol 51-86 %
- Sulfamerazin 49-72 %
- Sulfamethazin 46-70 %

Na základě těchto dat je možné alespoň částečně definovat některé podmínky a faktory, které významně ovlivňují účinnost technologie.

Hodnota pH – během testování bylo nejlepších výsledků účinnosti dosaženo u vzorků s nižším pH. Vliv nižšího pH se také i ve slévaných zbytcích AG roztoku, kdy vzorky rostoucí v nižším pH dosahovali vyšší účinnosti v prvních dnech. U některých xenobiotik pH matrice mění jejich sorpční vlastnosti. Sulfonamidová antibiotika v případě nižšího pH vykazují lepší sorpční vlastnosti konkrétně u Sulfamethoxazolu a Sulfamethazinu bylo nejvyšší sorpce při testech na půdních vodách dosaženo při pH matrice 4,0 [160].

Stáří mycelia tzv. doba fruktifikace – časové období od inokulace nosičů po zahájení v rámci dizertační práce bylo testováno mycelium ve stáří v rozmezí 10–12 dnů. V zahraničních studiích je standartně používáno myceliu po 12 dnech fruktifikace [134; 161; 125]. U Setup testů bylo testováno mycelium 10 a 11 dní bylo dosaženo také dobrých výsledků. A například při porovnání výsledků Printscreens testu s myceliem ve starém 12 dní a Setup testu s koncentrací sulfonamidových antibiotik 1 mg.l⁻¹, kde bylo použito myceliu staré 11 dní bylo v celkovém množství odbouráno po 7 dnech u 12 denního 31 % u 11 denního 38 % (je také potřeba brát v úvahu, že Printscreens testy byly prováděny s destilovanou vodou). Tedy z toho můžeme odvozovat, že fruktifikace mycelia v rozmezí 11–12 dní nevykazuje větší odchylky.

Doba přechovávání inokulačního materiálu – je doba mezi sběrem mateřských plodnic z volné přírody a procesem inokulace. Při testování byl použit inokulační materiál rozdílného stáří. Porovnání účinku je nejlépe pozorovatelné při porovnání výstupních hodnot celkové účinnosti vzorků ze souboru II, kdy byla doba přechovávání inokulačního materiálu 20 dní. Vzorky ze souboru II pro koncentraci 100 µg.l⁻¹ každého analytu po 3 dnech vykazovali průměrné celkové odbourání všech sulfonamidových antibiotik pouze 7,87 % pro srovnání vzorky ze souboru III (doba přechovávání inokulačního materiálu pro soubor III byla 2 hodiny) použité pro koncentraci 1 mg.l⁻¹ tj. 10 krát vyšší, měli celkovou účinnost po 3 dnech 23,40 %.

Průběh fruktifikace – průběh fruktifikace je do značné míry ovlivněn několika faktory jednak původem inokulačního materiálu, sterilitou práce při provádění inokulace nosičů a dostatečná výživa v myceliu v procesu fruktifikace. Podle protokolu popisujícího průběh testování i jednotlivých souborů je zdokumentováno že ne vždy vzorky vykazovaly stejné parametry růstu. To je možné částečně zdůvodnit právě nedokonalým ošetřením mateřských plodnic během inokulace, kdy se ke vzorkům pravděpodobně dostali i jiné biologické materiály. Proces fruktifikace byl podpořen průběžným přidáváním AG roztoku. Celkové množství přidaného AG roztoku na jeden vzorek činilo v průměru 25 ml, což by dle výstupních hodnot mělo být dostačující množství pro mycelium s dobou fruktifikace 10–12 dní.

Druh vodní matrice (podíl organických či minerálních látek ve vodě) – dle kapitoly „Porovnání účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik v modelové a odpadní vodě“ prokázáno, že bohatost vodní matrice zvyšuje v průměru účinnost technologie. Toto je patrné i v případě porovnání účinnosti technologie během Printscreens testu a Setup testu pro 100 µg.l⁻¹ po 7 dnech (oba testy měly shodnou koncentraci sulfonamidu a stejnou dobu trvání). V Printscreens testu, kdy byla užitá jako medium destilovaná voda byla celková účinnost 31 % u Setup testu s kohoutkovou vodou byla účinnost 89,9 %.

Teplotní podmínky – proces fruktifikace na 3D kostkových nosičích byl prováděn za standartní pokojové teploty tj. v rozmezí od 18 °C do 24 °C. Během testů byly vzorky temperovány v termoskříních při teplotě 25 °C. *Trametes versicolor* je houba, jejíž růst ve volné přírodě není limitován teplotními podmínkami panujícími v podnebním pásmu ČR růst mycelia byl pozorován i v zimních měsících viz. obrázek 101. Tedy provoz samotné technologie i proces fruktifikace by mělo být možné provádět i ve venkovních teplotních podmínkách.



Obrázek 85 Mycelium *Trametes versicolor* únor 2018

Světelné podmínky – u dřevokazných hub je nezbytné, aby proces fruktifikace probíhal bez přístupu světla. V přírodě se mycelium *Trametes versicolor* vyvíjí za snížených světelných podmínek. Samotné testování probíhalo také za nepřístupu světla nicméně tyto podmínky byly nastaveny na základě obavy, že by výsledky účinnosti mohly být zkresleny vlivem fotodegradace léčiv. V zahraničních studiích není testování účinnosti dřevokazných hub světelnými podmínkami nijak limitováno [129; 122; 128].

6 Přínosy dizertační práce

Dizertační práce má jasně stanovené cíle. Z jejich naplnění vyplynuly přínosy nejen pro vědní obor, ale také pro praxi. Detailnější pohledy na oblasti přínosů dizertační práce, jsou uvedeny v následujících dvou podkapitolách.

6.1 Přínos pro vědní obor

Práce je spojení dvou do sebe se prolínajících témat, z nichž jedno je čistě na teoretické úrovni a druhé je vědeckým experimentem založeným na dostupném vědeckém základu, který byl následně ověřen v laboratorních podmínkách.

Dizertační práce poskytuje přínos pro vědní obor zejména v následujících oblastech:

- Vypracování souhrnu poznatků současného stavu poznání problematiky xenobiotik v odpadních vodách týkající se výskytu, klasifikace, chování a metodám jejich eliminace.
- Vypracování souhrnu dostupných poznatků o dřevokazných houbách a jejich aplikaci v dekontaminačních procesech.
- Zpracování metodiky inokulace a fruktifikace bionosičů vzorky hub nasbíraných ve volné přírodě.
- Rozšíření dosavadní úrovně poznání v oblasti bioremediační technologie při použití dřevokazných hub.

- Objevení možnosti využitelnosti 3D tisku v oblasti vývoje bioremediátorů v biofiltračních procesech.
- Výsledky této práce mohou sloužit jako základ pro následný výzkum a vývoj i v jiných oblastech, jako je dekontaminace půd či odpadové hospodářství.

V závěru bych ráda uvedla, že výzkum aplikace 3D tisku s integrovanými mikroorganismy by mohl do budoucna představovat úplně nové odvětví v oblasti čištění odpadních vod.

6.2 Přínos pro praxi

Z praktického hlediska přináší práce inovativní pohled na problematiku odbourávání xenobiotik pomocí dřevokazných hub za využití 3D tisku.

Mezi hlavní praktické přínosy disertační práce patří:

- Vývoj nového unikátního typu bionosičů ve formě 3D kostek vyrobených 3D tiskem.
- Výpočet a návrh modelu 3D kostek na bázi *Luffy Cylindrica*.
- Návrh a zkonstruování laboratorního modelu, jež bude předstupněm pro poloprovozní zařízení.
- Analýza faktorů a podmínek ovlivňujících účinnost eliminace.
- Stanovení rozmezí eliminace pro jednotlivá sulfonamidová antibiotika.

6.3 Návrh dalšího postupu

Dalším stupněm by měl být převod technologie do poloprovozního zařízení, které by z praktického hlediska lépe zhodnotilo její potenciál. Předtím však bude nutné provést další testování zaměřené na vliv hydrodynamických podmínek, rozmezí doby zdržení odpadní vody, jiných kombinací xenobiotik, podrobnější zkoumání metod inokulace či možnostech fruktifikace přímo v koších a účinnost eliminace z hlediska větších objemů vody.

ZÁVĚR

Závěrem této práce mohu potvrdit, že cíle, která jsem si na počátku stanovila jsem splnila a to:

- 1) *Rešerše dostupné literatury a zajištění podkladů o současné problematice výskytu, klasifikace, chování, testování a eliminaci xenobiotik v městských odpadních vodách.*

Tento cíl v podstatě tvoří celou teoretickou část mé práce, kde jednotlivé kapitoly zcela odpovídají výše uvedeným bodům. Navíc jsem pak zpracovala zvláštní stať věnovanou detailnějšímu rozboru vybraných léčiv (která v současné době prokazatelně negativně ovlivňují ŽP), včetně jejich historického vývoje za účelem vytvořit představu odkdy se tyto látky stávají součástí vodního cyklu.

2) Definování funkce základních parametrů navrhované bioremediační technologie.

Definice základního fungování technologie byla postavena na bázi zahraničních studií a současném stavu poznání působení ligninolytického enzymatického systému dřevokazných hub při degradaci různých druhů makromolekulárních látek (mj. i xenobiotik).

V rámci kapitoly „1.1 Stanovení základního paradigma technologie na základě aplikace dřevokazných hub v problematice odbourávání xenobiotik z životního prostředí“ byl popsán i celý enzymatický systém, včetně jednotlivých enzymů a popsány druhy dřevokazných hub použitých při různých dekontaminačních procesech. Do kapitoly byly zařazeny i metody jejich použití a zařízení testované v zahraničí na reálných odpadních vodách.

Na základě toho bylo paradigma technologie a podmínek jejího testování stanoveno následovně:

- Použitý druh pro testování – *Trametes versicolor*.
- Technologie koncipována ve formě shora zkrápěného biofiltračního zařízení s bionosiči imobilizovanými myceliem výše zmíněného druhu houby.
- Mateřské plodnice určené pro inokulaci budu odebírány přímo z volné přírody.
- Z hlediska praktického využití by na ČOV byla technologie tzv. terciálním stupněm dočištění (tj. až za biologickým stupněm).
- Testování bude probíhat v laboratorních podmínkách a tomu bude uzpůsobena i velikost modelu.

3) ,6), 8) Definování metod a postupů testování bioremediačního zařízení. Testování a verifikace nosičů biofiltračních médií – bioremediátorů (substrát, 3D kostky). Ověření technologie v laboratorních podmínkách na základě předepsaných testovacích metodik.

Tyto cíle jsou podrobněji rozvedeny ve 3 Fázi, která obsahuje metodiku testování při použití obou typů nosičů:

- Pro substrátové koše – 100 µg.l⁻¹ u každého analytu v kohoutkové vodě – bohužel u tohoto testu nebylo možné provést korektní interpretaci výsledků z důvodu velkého matričního efektu vzorku (na základě toho byl vyvinut bionosič ve formě 3D kostek).
- Pro 3D kostky:
 - Pro Printscreen test – 1 mg.l⁻¹ u každého analytu v destilované vodě. Účel tohoto testu bylo ověřit účinnost eliminace.
 - Pro Setup test – 20 µg.l⁻¹, 100 µg.l⁻¹, 1 mg.l⁻¹ a 2 mg.l⁻¹ u každého analytu v kohoutkové vodě a 20 µg.l⁻¹ každého analytu v odpadní vodě. Stanovit základní rozmezí účinnosti v laboratorních podmínkách při použití různých úrovní koncentrace sulfonamidového roztoku. Průběh setup testů je velmi podrobně zdokumentován v protokolu, jež je přílohou dizertační práce.

4) + 7) *Návrh a zkonstruování laboratorního modelu a jeho součástí.*

Konstrukční uspořádání laboratorního modelu vychází ze základního paradigma technologie. Jádrem modelu je bioreaktor (bioreakční nádrž), ve kterém bude docházet ke styku testované vody s bionosičem imobilizovaným myceliem. Bionosiče jsou umístěné ve vyjímatelném koši zavěšeném v nádrži pomocí háků tak, aby jej bylo možné vyjmout. Voda je do bioreakční nádrže čerpána z napouštěcí nádrže skrze skrápěcí ramena, a ta je ve spodní části opatřena uzavíracím výtokem ústícím do sběrné nádrže. Laboratorní model byl sestaven v laboratořích výzkumného centra AdMaS mnou osobně.

5) *Definování metod a postupů sběru, uchovávání a inokulace dřevokazných hub.*

Tvorbě metodiky inokulace a fruktifikace je věnována 2 Fáze. Každý z nosičů použitých v testování má svůj vlastní způsob inokulačního procesu. V případě testování 3D kostek byl pro urychlení procesu růstu mycelia použit katalyzátor ve formě agarovo-glukózového roztoku.

9) *Analýza naměřených dat.*

Grafické zpracování výstupů testování a zhodnocení vlivů faktorů ovlivňující účinnost eliminace je popsán v kapitole 4 „Vyhodnocení testů“. Celkově bylo prověřeno, že technologie za použití 3D kostek je dostatečně účinná, neboť během testování se v koncentrační hladině $20 \mu\text{g.l}^{-1}$ každého analytu v odpadní vodě podařilo například u Sulfomethoxazolu dosáhnout až 78% eliminace již po 3 dnech, a dokonce nejnižší účinnost po 3 dnech ve stejné koncentrační hladině pro Sulfamerazin byla až 46 %.

Dlouhodobě testy odhalily cyklické průběhy účinnosti eliminace způsobené jednak odumíráním myceliární hmoty (testy byly prováděny za hydrostatických podmínek), kdy byla část adsorbovaných a absorbovaných látek vyloučena zpět do vzorku, ale podíl na těchto výsledcích měl pravděpodobně i intracelulární enzymatický systém, který látky rozkládá jejich postupnou metabolizací za současného vzniku nových co-produktů a ty jsou dále metabolizovány až k úplnému rozložení.

10) *Vyvození obecných závěrů a základních podmínek pro aplikaci technologie.*

Na základě vyhodnocení testů byly vyvozeny základní rozmezí účinnosti pro každý sulfonamid. A stanoveny základní faktory a podmínky ovlivňující průběh a míru eliminačního účinku technologie.

Lze tedy konstatovat, že hlavní i dílčí cíle disertační práce byly naplněny.

V praktické části je metodologicky seřazen celý průběh vývoje technologie včetně jejího testování, který je svým způsobem i chronologickým odrazem průběhu celého vývoje mé disertační práce. Příprava všech podkladů, návrhy, montování modelu, návrh a výroba bionosiče ve formě 3D kostek a následně samotné testování a jeho vyhodnocení zabraly 7 let. V průběhu těchto let jsem se tomu to tématu natolik intenzivně věnovala, že se stalo mou srdeční záležitostí a doufám, že budu moci výzkumu této technologie či aplikaci dřevokazných hub v dekontaminačních procesech zasvětit i léta následující.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

BIBLIOGRAFIE

- [1] FATTA-KASSINOS, D., K. BESTER a K. KÜMMERER. *Xenobiotics in the Urban Water Cycle Mass Flows, Environmental Processes, Mitigation and Treatment Strategies*. Environmental Pollution, 2010.
- [2] JOBLING, S. *Endocrine disruption in wild freshwater fish*. 200, 75(10-11), s. 2219-2234.
- [3] SULTANNA, T., C. MURRAY, S. KLEYWEGHT a Ch.D. METCALFE. *Neonicotinoid pesticides in drinking water in agricultural regions of southern Ontario, Canada*. 2018, 22.
- [4] KLARICH, K.L., N.C. PFLUG, E.M. DEWALD, M.L. HLADIK, D.W. KOLPIN a D.M., CWIERTNY. *Occurrence of Neonicotinoid Insecticides in Finished Drinking Water and Fate during Drinking Water Treatment*. 2017, 4(5), 168–173.
- [5] SCHIPPER, P.N.M., M.J.M. VISSERS a A.M.A. VAN DER LINDEN. *Pesticides in groundwater and drinking water wells: Overview of the situation in the Netherlands*. 2008, 57(8), s. 1277-1286.
- [6] MATSUSHITA, T., A. MORIMOTO a T KURIYAMA. *Removals of pesticides and pesticide transformation products during drinking water treatment processes and their impact on mutagen formation potential after chlorination*. 2018, 138, s. 67-76.
- [7] ONESIOS, K.M. a E.J. BOUWER. *Biological removal of pharmaceuticals and personal care products during laboratory soil aquifer treatment simulation with different primary substrate concentrations*. *Water Research*. 2021, 46(7), 2365-2375.
- [8] PITTER, P. *Hydrochemie*. Prague: VŠCHT Praha, 2009.
- [9] CARSON, R. *Silent Spring*. Boston, New York: HOUGHTON MIFFLIN COMPANY, 1962.
- [10] ELION, G.B. *The purine path of chemotherapy*. 1988.
- [11] BLACK, J. *Drugs from emasculated hormones: the principles of synaptic antagonism*. 1988.

- [12] ENDO, A. *A historical perspective on the discovery of statins*. 2010, s. 484-496.
- [13] WATTS, G. *Obituary: Sir David Jack*. 2012.
- [14] STUMM-ZOLLINGER, E. a G. FAIR. *Biodegradation of steroid hormones*. 1965, 37(11), 1506–1510. Dostupné také z: <http://www.jstor.org/stable/25035413>
- [15] COLBORN, T., F. VOM SAAL a A. SOTO. *Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans*. 1993, 101(5), 378–384. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1289/ehp.93101378>
- [16] ANON, . *Statement from the work session on chemically-induced alterations in sexual development: the wildlife/human connections*. In: . Racine, Wisconsin: Wingspread Conference Centre, 1991.
- [17] COLBORN, Theo, Dianne DUMANOSKI a John MYERS. *Our Stolen Future: Are We Threatening Our Fertility, Intelligence, and Survival? A Scientific Detective Story*. Little, Brown, 1996.
- [18] EIGHT, Environment. *Declaration of the Environment Leaders of the Eight on Children's Environmental Health*. May, 1997.
- [19] UNEP, . *Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants*. In: . Stockholm: Conference of Plenipotentiaries, 2001.
- [20] EVROPSKÝ PARLAMENT, Rada. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES ze dne 23. října 2000, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky. *EUR-Lex*. 2000. Dostupné také z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/;ELX_SESSIONID=Kvh1TnBV6h0I3S1xHBnCXTGfKRycppsYwS1QRKdpOKcgQFLLTKJh!-60128961?uri=CELEX:32000L0060
- [21] EVROPSKÝ PARLAMENT, Rada. SMĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY 2008/56/ES - ze dne 17. června 2008, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti mořské environmentální politiky. *EUR - Lex*. 2008. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=celex:32008L0056>
- [22] UNIE, Rada. Směrnice Rady ze dne 12. prosince 1991 o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů. *EUR - Lex*. 1991.
- [23] EVROPSKÝ PARLAMENT, Rada. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2009/128/ES ze dne 21. října 2009 , kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství za účelem dosažení udržitelného používání pesticidů. *EUR - Lex*. 2009.

- [24] UNIE, Rada. Směrnice Rady ze dne 21. května 1991 o čištění městských odpadních vod. *EUR - Lex*. 1991. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=celex:31991L0271>
- [25] KOMISE, Evropská. SMĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY COM(2011) 876 final - kterou se mění směrnice 2000/60/ES a 2008/105/ES, pokud jde o prioritní látky v oblasti. *Evropská komise*. 2011.
- [26] UNIE, Rada. Návrh SMĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY o jakosti vody určené k lidské spotřebě. *EUR- Lex*. 2018. Dostupné také z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CONSIL:ST_7516_2018_INIT&qid=1536657275321
- [27] KOMISE, Evropská. WFD CIRCA: "Implementing the Water Framework Directive and the Floods Directive". *CIRCABC*. b.r. Dostupné také z: https://circabc.europa.eu/faces/jsp/extension/wai/navigation/container.jsp?FormPrincipal:_idcl=FormPrincipal:left-menu-link-lib-closed&FormPrincipal_SUBMIT=1&javax.faces.ViewState=7ytPZfU9ZMkksCSAnREYGGI6EfW6ncPb6Bi4ZOyeMzgDNU9s6uCwbPOkhSV%2BQgn98pZdffSzS
- [28] EVROPSKÁ KOMISE, generální. ZPRÁVA KOMISE EVROPSKÉMU PARLAMENTU, RADĚ, EVROPSKÉMU HOSPODÁŘSKÉMU A SOCIÁLNÍMU VÝBORU A VÝBORU REGIONŮ Devátá zpráva o stavu provádění a prováděcích programech (podle článku 17) směrnice Rady 91/271 / EHS o čištění městských odpadních vod. *EUR - Lex*. 2017. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:52017DC0749&qid=1536658256809>
- [29] ENVIRONMENT), European. European national urban waste water websites. *Urban Wastewater Treatment Directive Structured Implementation and Information Framework*. b.r. Dostupné také z: <http://uwwtd.oieau.fr/node/139587>
- [30] KOMISE, Evropská. EU - Pesticides database. *European Commission*. b.r. Dostupné také z: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=CS>
- [31] EUROPEAN COMMISSION (DG ENVIRONMENT, Joint. *WISE - Water Information System for Europe is the European information gateway to water issues*. b.r. Dostupné také z: <https://water.europa.eu/about-us>
- [32] (JR, Institute. *FATE*. b.r. Dostupné také z: <http://fate.jrc.ec.europa.eu/accessibility-info.html>

- [33] EVROPSKÝ PARLAMENT, Rada. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 ze dne 18. prosince 2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (REACH) ao zřízení Evropské agentury pro chemické látky. *EUR - Lex*. 2006. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32006R1907&qid=1536660368727>
- [34] CALIMAN, F. a M. GAVRILESCU. *Pharmaceuticals, Personal Care Products and Endocrine Disrupting Agents in the Environment - A Review*. 2009, 37(4-5), s. 277-303.
- [35] CLAUDE, L. a Jr. HUGHES. *Phytochemical Mimicry of Reproductive Hormones and Modulation of Herbivore Fertility by Phytoestrogens*. 1988, 77, s. 171-175.
- [36] ERIKSSON, E., A. BAUN, P. MIKKELSEN a A. LEDIN. *Risk assessment of xenobiotics in stormwater discharged to Harrestrup Å, Denmark*. 2007, 215, 187–197.
- [37] HEBERER, T. *Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water*. 2002, s. 175-189.
- [38] SÚKL, . Databáze léku. SÚKL - Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2018. Dostupné také z: <http://www.sukl.cz/leciva>
- [39] LINCOVÁ, D. a et FARGHALI H. *Základní a aplikovaná farmakologie*. . Praha: GRADA, 2007.
- [40] BRUNE, K. a B. HINZ. History of analgesics. SCHMIDT RF, Willis. *Encyclopedia of Pain*. Berlin: Springer, 2007, s. 899-904.
- [41] NEŠMERÁK, K. History of analgetics. *Research Gate*. 2016. Dostupné také z: https://www.researchgate.net/publication/309670737_History_of_analgesics
- [42] OAKS, J.L., M. GILBERT, M.Z. VIRANI et al. *"Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan*. 2004, s. 630-633.
- [43] ŽUR, J., D. WOJCIESZYŃSKA, K. HUPERT-KOCUREK, A. MARCHLEWICZ a U. GUZIK. *Paracetamol – toxicity and microbial utilization. Pseudomonas moorei KB4 as a case study for exploring degradation pathway*. 2018, s. 192-202.
- [44] DE GUSSEME, B., L. VANHAECKE, W. VERSTRAETE a N. BOONA. *Degradation of acetaminophen by Delftia tsuruhatensis and Pseudomonas aeruginosa in a membrane bioreactor*. 2011, s. 1829-1837.

- [45] ANTUNES, S.C., R. FREITAS, E. FIGUEIRA, F. GONCALVES a B. NUNES. *Biochemical effects of acetaminophen in aquatic species: edible clams Venerupis decussata and Venerupis philippinarum*. 2013, 6658–6666.
- [46] LI, J., Q. YE a J. GAN. *Degradation and transformation products of acetaminophen in soil*. 2014, s. 44-52.
- [47] WANG, J., Sh. ZHAO, M. ZHANG a B. HE. *Targeted ecopharmacovigilance for ketoprofen in the environment: Need, strategy and challenge*. 2017, s. 450-462.
- [48] PRÁŠKOVÁ, E., S. ŠTĚPÁNOVÁ, L. CHROMCOVÁ, L. PLHALOVÁ, E. VOŠLÁŘOVÁ, V. PIŠTĚKOVÁ, M. PROKEŠ a Z. SVOBODOVÁ. *The effects of subchronic exposure to ketoprofen on early developmental stages of common carp*. 2013, s. 343-347. Dostupné také z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84888106851&origin=inward&txGid=d49477afa324b6effe6bba5230297730>
- [49] VERLICCHI, P., M. AL AUKIDY a E. ZAMBELLO. *Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-a review*. 2012, s. 123-155.
- [50] EU, . Směrnice 2013/39 Evropského parlamentu a Rady ze dne 12. srpna 2013 Směrnice pozměňující 2000/60 / ES a 2008/105 / ES, pokud jde o prioritní látky v oblasti vodní politiky. *Úřední věstník Evropské unie*. 2013. Dostupné také z: <https://publications.europa.eu/cs/publication-detail/-/publication/296e91b8-4610-11e3-ae03-01aa75ed71a1/language-cs>
- [51] BOUJU, H., P. NASTOLD, B. BECK, J. HOLLENDER a T. WINTGENS. *Elucidation of biotransformation of diclofenac and 4'-hydroxydiclofenac during biological wastewater treatment*. 2016, s. 443-452.
- [52] VIENO, N. a M. SILLANPÄÄ. *Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant — A review*. 2014, s. 28-39.
- [53] VELO, G. *Ecopharmacovigilance for better health*. 2010, 963–968.
- [54] WANG, X.,. *Removal of cytostatic drugs from wastewater by an anaerobic osmotic membrane bioreactor*. 2018, 339, s. 153-161.
- [55] SCHWAIGERA, J., H. FERLINGA, U. MALLOWA, H. WINTERMAYR a R.D. NEGELEA. *Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout*. 2004, s. 141-150.

- [56] KRAIGHER, B., T. KOSJEK, E. HEATH, B. KOMPARE a I. MANDIC-MULEC. *Influence of pharmaceutical residues on the structure of activated sludge bacterial communities in wastewater treatment bioreactors*. 2008, s. 4578-4588.
- [57] GROENING, J., C. HELD, C. GARTEN, U. CLAUSNITZER, S.R. KASCHABEK a M. SCHLOEMANN. *Transformation of diclofenac by the indigenous microflora of river sediments and identification of a major intermediate*. 2007, s. 509-516.
- [58] FACEY, S., B. NEBEL, L. KONTNY, M. ALLGAIER a B. HAUER. *Rapid and complete degradation of diclofenac by native soil microorganisms*. 2018, s. 55-61.
- [59] BUERGE, I.J., H-R. BUSER, T. POIGER a M. MÜLLER. *Occurrence and fate of the cytostatic drugs cyclophosphamide and ifosfamide in wastewater and surface waters*. 2006, 7242–7250. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0609405>
- [60] O'SHEA, D. *Internet archive - Dublin City University*. 2005. Dostupné také z: <https://web.archive.org/web/20120105081602/http://www.dcu.ie/~oshead/BE401/brewing/lecture4.pdf>
- [61] PAZDERA, J. Jak moc roste spotřeba antibiotik?. *OSEL*. 2015. Dostupné také z: <http://www.osel.cz/8164-jak-moc-roste-spotreba-antibiotik.html>
- [62] WHO, . Antimicrobial resistance. *World Health Organisation*. 2018. Dostupné také z: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- [63] KUMMERER, K. *Resistance in Environment*. 2004, s. 311-320. Dostupné také z: https://watermark.silverchair.com/dkh325.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAZwwggGYBgkqhkiG9wOBBwagggGJMIBhQIBADCCAX4GCSqGSIsb3DQEhATAeBgIghkgBZQMEA S4wEQQM scoogTmNdJpM-APWAgEQglIBT_EnQssORADfpj4Hq4dE25nuRQnbDfdUUwgJOhpsWA_NI vb3
- [64] KARKMAN, A., T. DO, F. WALSH a M. VIRTÁ. *Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water*. Elsevier, 2018, s. 220-228. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0966842X1730210X>

- [65] BERGERON, S., R. BOOPATHY, R. NATHANIEL, A. CORBIN a G. LAFLEUR. *Presence of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in raw source water and treated drinking water*. 2015, s. 370-374. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0964830515001456>
- [66] WHO, . Critically important antimicrobials for human medicine, 5th revision. WHO. 2017. Dostupné také z: <http://www.who.int/foodsafety/publications/antimicrobials-fifth/en/>
- [67] WHO, . Antimicrobial resistance. World Health Organization. 2018. Dostupné také z: <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- [68] SEPPALA, H., T. KLAUKKA, J. VUOPIO-VARKILA, A. MUOTIALA, H. HELENIUS a Ležák K. *The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A Streptococci in Finland*. 1997, s. 441-446.
- [69] PAPAGEORGIOU, M., Ch. KOSMA a D. LAMBROPOULOU. *Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece*. 2016, s. 547-569. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0048969715310287>
- [70] HARRABI, M., S. GIUSTINA, F. ALOULOU, S. RODRIGUEZ-MOZAZ a B. ELLEUCH. *Analysis of multiclass antibiotic residues in urban wastewater in Tunisia*. 2018, s. 163-170. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S2215153217302775>
- [71] YANG, Y., S. YIN, Y. LI, D. LU, J. ZHANG a Ch. SUN. *Application of aptamers in detection and chromatographic purification of antibiotics in different matrices*. 2017, s. 1-22.
- [72] JIANGA, H., R. ZHOUA, M. ZHANGA, Z. CHENGB, J. LI, G. CHENA, S. ZOUA a Y. YANGA. *Exploring the differences of antibiotic resistance genes profiles between river surface water and sediments using metagenomic approach*. 2018, s. 64-69. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0147651318304275>
- [73] HU, Y., X. YAN, Y. SHEN, MX. DI a J. WANG. *Antibiotics in surface water and sediments from Hanjiang River, Central China: Occurrence, behavior and risk assessment*. 2018, s. 150-158. Dostupné také z: https://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=37&SID=D26pM7ZjzGBNdsNLXIh&page

- [74] GAO, P, M MUNIR a I XAGORARAKI. *Correlation of tetracycline and sulfonamide antibiotics with corresponding resistance genes and resistant bacteria in a conventional municipal wastewater treatment plant*. 2012, s. 173-183. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0048969712001428>
- [75] GILMAN, A. *The initial clinical trial of nitrogen mustard*. 1963, s. 574-578.
- [76] CANCER RESEARCH, UK. *Cancer Drugs*. *Cancer Research UK*. 2012. Dostupné také z: <https://about-cancer.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/cancer-drugs>
- [77] DUBEY, K., P. LUISA, R. JANSSENS, M.I. KANTI a M. KASHYAP. *Slurry photocatalytic membrane reactor technology for removal of pharmaceutical compounds from wastewater: Towards cytostatic drug elimination*. 2017.
- [78] FRANQUET-GRIELL, H., F. VENTURA, M.R. BOLEDA a Lacorte S. *Do cytostatic drugs reach drinking water? The case of mycophenolic acid*. 2016, s. 532-536.
- [79] FRANQUET-GRIELL, H., A. MEDINA, C. SANS a S. LACORTE. *Biological and photochemical degradation of cytostatic drugs under laboratory conditions*. 2017, s. 319-328. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0304389416306124#bib0005>
- [80] FERRANDO-CLIMENT, L., M.S. RODRIGUEZ a D. BARCELÓ. *Incidence of anticancer drugs in an aquatic urban system: from hospital effluents through urban wastewater to natural environment*. 2014, (183), s. 216-223.
- [81] FERRANDO-CLIMENT, L., S. RODRIGUEZ-MOZAZ a D. BARCELÓ. *Incidence of anticancer drugs in an aquatic urban system: From hospital effluents through urban wastewater to natural environment*. 2014, s. 216-223.
- [82] BUERGE, I. *Occurrence and fate of the cytostatic drugs cyclophosphamide and ifosfamide in wastewater and surface waters*. 2006, 7242–7250. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0609405>
- [83] MULLER, B. *Psychotropics 92/93*. Netherlands: Lundbeck, 1992.
- [84] BAN, T.A. *Pharmacotherapy of mental illness - a historical analysis*. 2001, s. 709-727.

- [85] KESSLER, R.C., M. PETUKHOVA, Sampson N.A., Zaslavsky A.M. a Wittchen H.U. *Twelve-month and lifetime prevalence and lifetime morbid risk of anxiety and mood disorders in the United States*. 2012, 169–184.
- [86] HILLHOUSE, T. a J. PORTER. *A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate*. 2015, s. 1-21.
- [87] TERNES, T.A. *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers*. 1998, (32), s. 3245-3260.
- [88] SNYDER, . *Occurrence, treatment, and toxicological relevance of EDCs and pharmaceuticals in water*. 2008, 1(30), s. 65-69.
- [89] GIEBUŁTOWICZA, J. a G. NAŁĘCZ-JAWECKIB. *Occurrence of antidepressant residues in the sewage-impacted Vistula and Utrata rivers and in tap water in Warsaw (Poland)*. 2014, (104), s. 103-109.
- [90] LAJEUNESSE, A., S.A. SMYTH, K. BARCLAY, S. SAUVÉ a C. GAGNON. *Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada*. 2012, 17(46), s. 5600-5612.
- [91] VASSKOG, T., T. ANDERSEN, S. PEDERSEN-BJERGAARD, R. KALLENBORN a E. JENSEN. *Occurrence of selective serotonin reuptake inhibitors in sewage and receiving waters at Spitsbergen and in Norway*. 2008, 2(1185), s. 194-205.
- [92] WICK, A., G. FINK, A. JOSS, H. SIEGRIST a T. TERNES. *Fate of beta blockers and psycho-active drugs in conventional wastewater treatment*. 2009, (43), s. 1060-1074.
- [93] LAJEUNESSEA, A, S SMYTH, K BARCLAY, S SAUVÉ a C GAGNONA. *Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada*. 2012, 46(17), s. 5600-5612.
- [94] MURRAY, K. *Schéma hmotnostní spektrometrie plynové chromatografie*. 2006. Dostupné také z: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Gcms_schematic.gif
- [95] AURIOL, M., Y. FILALI-MEKNASSI, R.D. TYAGI, C.D. ADAMS a R.Y. SURAMPALLI. *Endocrine disrupting compounds removal from wastewater, a new challenge*. 2006, 41(3), s. 525-539.
- [96] FENG, T.H. *Behavior of organic chloramines in disinfection*. 1966, (38), s. 614-628.

- [97] DONNERMAIR, M. a R.D. BLATCHLEY. *Disinfection efficacy of organic chloramines*. 2003, **37**(7), s. 1557-1570.
- [98] SUAREZ, S, M CARBALLA, F OMIL a J LEMA. *How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters?*. 2008, s. 125-138.
- [99] MESTRE, A., J. PIRES, J.M.N NOGUEIRA, J.B. PARRA, A.P. CARVALHO a O.C. ANIA. *Waste-derived activated carbons for removal of ibuprofen from solution: Role of surface chemistry and pore structure*. 2009, **100**(5), s. 1720-1726.
- [100] MARCO-URREA, E., M. PÉREZ-TRUJILLO, T. VICENT a G. CAMINAL. *Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by Trametes versicolor*. 2009, **74**(6), s. 765-772. Dostupné také z: [https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0045653508013520#!](https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0045653508013520#!)
- [101] MARCO-URREA, E., M. PÉREZ-TRUJILLO, P. BLANQUÉZ, T. VICENT a G. CAMINAL. *Biodegradation of the analgesic naproxen by Trametes versicolor and identification of intermediates using HPLC-DAD-MS and NMR*. 2010, **101**(7), s. 2159-2166.
- [102] SOUDEK, P., Š. PETROVÁ, D. BENEŠOVÁ, J. KOTYZA a T. VANĚK. *FYTOREMEDIACE A MOŽNOSTI ZVYŠOVÁNÍ JEJICH ČINNOSTI*. 2007, **102**(5), 346–352.
- [103] ZHAO, Ch., X. ZHOU a Y. YUE. *Determination of pore size and pore size distribution on the surface of hollow-fiber filtration membranes: a review of methods*. 200, **129**(2), s. 107-123.
- [104] LIU, Z., Y. KANJO a S. MIZUTANI. *Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment — physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: A review*. 2009, **407**(2), s. 731-748.
- [105] NGHIEM, L.D. a P.J. COLEMAN. *NF/RO filtration of the hydrophobic ionogenic compound triclosan: Transport mechanisms and the influence of membrane fouling*. 2008, **62**(3), s. 709-716.
- [106] CHON, Kangmin, Jaeweon CHO a Ho Kyong SHON. *Fouling characteristics of a membrane bioreactor and nanofiltration hybrid system for municipal wastewater reclamation*. *Bioresource Technology*. 2013, **130**, 239-247. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.12.007. ISSN 09608524. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852412018615>

- [107] ŠÁLEK, J. a V. TLAPÁK. *Přírodní způsoby čištění znečištěných povrchových a odpaních vod*. Praha: ČKAIT, 2006.
- [108] KALINA, T. a J. VÁŇA. *SINICE,ŘASY, HOUBY, MECHOROSTY a podobné organismy v současné biologii*. Praha: NAKLADATELSTVÍ KAROLINUM, 2010.
- [109] ROYAL BOTANIC GARDENS, Kew. Kew Science. *State of the World's Fungi Report 2018*. 2018. Dostupné také z: https://stateoftheworldsfungi.org/2018/reports/SOTWFungi_2018_Full_Report.pdf
- [110] HAKULINEN, R. *The use of enzymes for wastewater treatment in the pulp and paper industry - A new possibility*. 1988, 20(1), s. 251-262.
- [111] ROYER, G., M. DESROCHERS a L. JURASEK. *Batch and continuous decolorisation of bleached kraft effluents by a white-rot fungus*. 1985, 35(1), s. 14-22.
- [112] SWAMY, J. a J.A RAMSAYA. *The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes*. 1999, 24(3-4), s. 130-137. Dostupné také z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0141022998001057>
- [113] FIELD, J.A., E. JONG, G. FEIJOO-COSTA a J. BONT. *Screening for ligninolytic fungi applicable to the biodegradation of xenobiotics*. 1993, 11(2), s. 44-49. Dostupné také z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/0167779993901210>
- [114] MORGAN, P., S.T. LEWIS a R.J. WATKINSON. *Comparison of abilities of white-rot fungi to mineralize selected xenobiotic compounds*. 1991, 34(5), s. 693-696.
- [115] REDDY, C.A. *The potential for white-rot fungi in the treatment of pollutants*. 1995, 6(3), s. 320-328.
- [116] KIRBY, N., G. MC MULLAN a R. MARCHANT. *Decolourisation of an artificial textile effluent by Phanerochaete chrysosporium*. 1995, 17(7), s. 761-764.
- [117] PASZCZYNSKI, A., M.B. PASTI, S. GOSZCZYNSKI, D.L CRAWFORD a Crawford, . *New approach to improve degradation of recalcitrant azo dyes by Streptomyces spp. and Phanerochaete chrysosporium*. 1991, 13(5), s. 378-384.

- [118] SCHLIEPHAKE, K.,. *Decolourisation of a pigment plant effluent by Pycnoporus cinnabarinus in a packed-bed bioreactor*. 1993, **15**(11), s. 1185-1188.
- [119] SANNIA, G., P. LIMONGI, E. COCCA, F. BUONOCORE, G. NITTI a P. GIARDINA. *Purification and characterization of a veratryl alcohol oxidase enzyme from the lignin degrading basidiomycete Pleurotus ostreatus*. 1991, **1073**(1), s. 114-119.
- [120] HEINFLING, A., M.J. MARTÍNEZ, A.T. MARTÍNEZ, M. BERGBAUER a U. SZEWZYK. *Transformation of industrial dyes by manganese peroxidases from Bjerkandera adusta and Pleurotus eryngii in a manganese-independent reaction*. 1998, **64**(8), s. 2788-2793.
- [121] BOLLAG, J.M. a A. LEONOWICZ. *Comparative Studies of Extracellular Fungal Laccases*. 1984, **48**(4), s. 849-854.
- [122] HU, X., X. ZHAO a H. HWANG. *Comparative study of immobilized Trametes versicolor laccase on nanoparticles and kaolinite*. 2007, **66**(9), s. 1618-1626.
- [123] BLÁNQUEZ, P., N. CASAS, X. FONT, X. GABARRELL, M. SARRÀ, G. CAMINAL a T. VICENT. *Mechanism of textile metal dye biotransformation by Trametes versicolor*. 2004, **38**(8), s. 2166-2172.
- [124] TORÁN, J., P. BLÁNQUEZ a G. CAMINA. *Comparison between several reactors with Trametes versicolor immobilized on lignocellulosic support for the continuous treatments of hospital wastewater*. Elsevier, 2017, **243**, s. 966-974. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0960852417311513>
- [125] LI, X., J. XU, R. TOLEDO a H. SHIM. *Enhanced removal of naproxen and carbamazepine from wastewater using a novel countercurrent seepage bioreactor immobilized with Phanerochaete chrysosporium under non-sterile conditions*. 2015, **197**, s. 465-474.
- [126] RODARTE-MORALES ET AL., . *Biotransformation of three pharmaceutical active compounds by the fungus Phanerochaete chrysosporium in a fed batch stirred reactor under air and oxygen supl.* 2012, **24**(1), s. 145-156.
- [127] ZHOU, P., C. SU, B. LI a Y. QIAN. *Treatment of high-strength pharmaceutical wastewater and removal of antibiotics in anaerobic and aerobic biological treatment processes*. 2006, **132**(1).

- [128] CERRONE, F., P. BARGHINI, C. PESCIAROLI a M. FENICE. *Efficient removal of pollutants from olive washing wastewater in bubble-column bioreactor by Trametes versicolor*. 2011, **84**(2), s. 254-259. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0045653511003754>
- [129] BADIA-FABREGAT, M., D. LUCAS, M.A. PEREIRA et al. *Continuous fungal treatment of non-sterile veterinary hospital effluent: pharmaceuticals removal and microbial community assessment*. 2016, **100**(5), s. 2401-2415.
- [130] MIR-TUTUSAUS, J.A., M. SARRÀ a G. CAMINAL. *Continuous treatment of non-sterile hospital wastewater by Trametes versicolor: How to increase fungal viability by means of operational strategies and pretreatments*. 2016, **318**, s. 561-570. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0304389416306689>
- [131] CRUZ-MORATÓ, C., M. GORGA, M. PETROVIC, D. BARCELÓ, T. VICENT, M. SARRÀ a E. MARCO-URREA. *Hospital wastewater treatment by fungal bioreactor: Removal efficiency for pharmaceuticals and endocrine disruptor compounds*. 2014, **493**, s. 365-376. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0048969714008092>
- [132] EHLERS, G.A. a P.D. ROSE. *Immobilized white-rot fungal biodegradation of phenol and chlorinated phenol in trickling packed-bed reactors by employing sequencing batch operation*. 2005, **96**(11), s. 1264-1275. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0960852404003748>
- [133] NGUYEN, L.N., F.I. HAI, S. YANG, J. KANG, F.D.L. LEUSCH, F. RODDICK, W.E. PRICE a L.D. NGHIEM. *Removal of trace organic contaminants by an MBR comprising a mixed culture of bacteria and white-rot fungi*. 2013, **148**, s. 234-241. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S096085241301393X>
- [134] LEVIN, L., M. CARABAJAL, M. HOFRICHTER a R. ULLRICH. *Degradation of 4-nitrophenol by the white-rot polypore Trametes versicolor*. 2016, **107**, s. 174-179. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0964830515301451>
- [135] SCHAFFNER, M., P. RÜHS, F. COULTER, S. KILCHER a A. STUDART. *3D printing of bacteria into functional complex materials*. 2017, **3**, s. 2-9.

- [136] SHEN, J., Y. XIE, X. HUANG, S. ZHOU a D. RUAN. *Mechanical properties of luffa sponge*. 2012, **15**, s. 141-152. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616112001993>
- [137] CHEN, Qiang, Quan SHI, Stanislav N. GORB a Zhiyong LI. A multiscale study on the structural and mechanical properties of the luffa sponge from *Luffa cylindrica* plant. *Journal of Biomechanics*. 2014, **47**(6), 1332-1339. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2014.02.010. ISSN 00219290.
- [138] BARAN, W., E. ADAMEK, J. ZIEMIAŃSKA a A. SOBCZAK. *Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health*. 2011, **196**(30).
- [139] LIU, , Shaoyong LU, Wei GUO, Beidou XI a Weiliang WANG. Antibiotics in the aquatic environments: A review of lakes, China. *Science of The Total Environment*. 2018, **627**, 1195-1208. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.271. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718303140>
- [140] HRUŠKA, K. a M. FRÁNEK. *Sulfonamides in the environment: A review and a case report*. 2012, (57), s. 1-35.
- [141] SARMAH, Ajit K., Michael T. MEYER a Alistair B.A. BOXALL. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*. 2006, **65**(5), 725-759. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.03.026. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653506003213>
- [142] TAPPE, Wolfgang, Michael HERBST, Diana HOFMANN, Stephan KOEPPCHEN, Sirgit KUMMER a Björn THIELE. Degradation of Sulfadiazine by *Microbacterium lacus* Strain SDZm4, Isolated from Lysimeters Previously Manured with Slurry from Sulfadiazine-Medicated Pigs. *Applied and Environmental Microbiology*. 2013, , 2572–2577. DOI: 10.1128/AEM.03636-12. ISSN 0099-2240.
- [143] CHANG, Hong, Jianying HU, Mari ASAMI a Shoichi KUNIKANE. Simultaneous analysis of 16 sulfonamide and trimethoprim antibiotics in environmental waters by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2008, **1190**(1-2), 390-393. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.03.057. ISSN 00219673. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967308004949>

- [144] GÖBEL, A, C MCARDELL a A JOSS. Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Science of The Total Environment*. 2007, **372**(2-3), 361-371. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.07.039. ISSN 00489697.
- [145] WU, Ming-Hong a QUE. Occurrence, fate and interrelation of selected antibiotics in sewage treatment plants and their receiving surface water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2016, **132**(1), 132-139. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.06.006.
- [146] XU, Weihai, Gan ZHANG, Xiangdong LI, Shichun ZOU, Ping LI, Zhaohui HU a Jun LI. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China. *Water Research*. 2007, **41**(19). DOI: 10.1016/j.watres.2007.06.023. ISSN 00431354.
- [147] DU, Juan, Hongxia ZHAO, Sisi LIU, Huaijun XIE, Yan WANG a Jingwen CHEN. Antibiotics in the coastal water of the South Yellow Sea in China: Occurrence, distribution and ecological risks: Occurrence, distribution and ecological risks. *Science of The Total Environment*. 2017, **595**, 521-527. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.281. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969717308124>
- [148] BIAŁK-BIELIŃSKA, Anna, Joanna MASZKOWSKA, Wojciech MROZIK, Agata BIELAWSKA a Marta KOŁODZIEJSKA. Sulfadimethoxine and sulfaguanidine: Their sorption potential on natural soils. *Chemosphere*. 2012, **86**(10), 1059-1065. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.11.058. ISSN 00456535.
- [149] CHEN, Jun, You-Sheng LIU, Jin-Na ZHANG, Yong-Qiang YANG, Li-Xin HU a Yuan-Yuan YANG. Removal of antibiotics from piggery wastewater by biological aerated filter system: Treatment efficiency and biodegradation kinetics. *Bioresource Technology*. 2017, **238**, 70-77. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.04.023. ISSN 09608524.
- [150] PROIA, L., V. OSORIO, S. SOLEY, M. KÖCK-SCHULMEYER, S. PÉREZ, D. BARCELÓ, A.M. ROMANÍ a S. SABATER. Effects of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impacted river. *Environmental Pollution*. 2013, **178**, 220-228. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.02.022. ISSN 02697491. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749113000985>

- [151] PROIA, Lorenzo, Adriana ANZIL, Jessica SUBIRATS, Carles BORREGO, Marinella FARRÈ, Marta LLORCA, Jose Luis BALCÁZAR a Pierre SERVAIS. Antibiotic resistance along an urban river impacted by treated wastewaters. *Science of The Total Environment*. 2018, **628-629**, 453-466. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.083. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004896971830473X>
- [152] GUO, Xiaoyu, Chenghong FENG, Jianhong ZHANG, Chenhao TIAN a Jingling LIU. Role of dams in the phase transfer of antibiotics in an urban river receiving wastewater treatment plant effluent. *Science of The Total Environment*. 2017, **607-608**, 1173-1179. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.07.096. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969717317813>
- [153] RÖBLER, Martin, Conrad MARX, Sam DIAMOND, Sara SCHUBERT, Reinhard OERTEL a Joachim FAULER. Occurrence and removal of frequently prescribed pharmaceuticals and corresponding metabolites in wastewater of a sewage treatment plant. *Science of The Total Environment*. b.r., **532**, 762-770. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.06.067. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969715302631>
- [154] ADAMEK, Ewa, Wojciech BARAN a Andrzej SOBCZAK. Assessment of the biodegradability of selected sulfa drugs in two polluted rivers in Poland: Effects of seasonal variations, accidental contamination, turbidity and salinity. *Journal of Hazardous Materials*. 2016, **313**, 147-158. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.03.064. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389416302862>
- [155] SUKOVÁ, P. *Možnosti eliminace sulfonamidů z vodního ekosystému*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018, s. 100.
- [156] XU, Jian, Zhineng HAO, Changsheng GUO, Yuan ZHANG, Yan HE a Wei MENG. Photodegradation of sulfapyridine under simulated sunlight irradiation: Kinetics, mechanism and toxicity evolvement. *Chemosphere*. 2014, **99**, 186-191. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.10.069. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653513015038>
- [157] CHEN, Jianfei a Shuguang XIE. Overview of sulfonamide biodegradation and the relevant pathways and microorganisms. *Science of Total environment*. 2018, **640-641**(1465-1477), 1465-1477. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.016. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718320783>

- [158] LI, Jianan, Weixiao CHENG, Like XU, Yanan JIAO, Shams Ali BAIG a Hong CHEN. Occurrence and removal of antibiotics and the corresponding resistance genes in wastewater treatment plants: effluents' influence to downstream water environment. *Environmental Science and Pollution Research*. 2016, 23(7), 6826-6835. DOI: 10.1007/s11356-015-5916-2. ISSN 0944-1344. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-015-5916-2>
- [159] TORRESI, Elena, Fabio POLESEL, Kai BESTER, Magnus CHRISTENSSON, Barth F. SMETS, Stefan TRAPP, Henrik R. ANDERSEN a Benedek Gy. PLÓSZ. Diffusion and sorption of organic micropollutants in biofilms with varying thicknesses. *Water Research*. 2017, 123, 388-400. DOI: 10.1016/j.watres.2017.06.027. ISSN 00431354. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135417305031>
- [160] PARK, J. Effect of pH and soil structure on transport of sulfonamide antibiotics in agricultural soils. *Environmental Pollution*. 2016, 213, 561–570. DOI: doi:10.1016/j.envpol.2016.01.089.
- [161] TERAMOTO, H., H. TANAKA a H. WARIISHI. Degradation of 4-nitrophenol by the lignin degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Microbiol.* 2004, (66), 312-317.
- [162] LEE, W. a P. WESTERHOFF. *Formation of organic chloramines during water disinfection – chlorination versus chloramination*. 2009, 43(8), s. 2233-2239.
- [163] KLEIN, W. Final Report - Revised Proposal for List of Priority Substances in the Context of the Water Framework Directive (COMMPs Procedure). . *European Commission*. 1999. Dostupné také z: http://ec.europa.eu/environment/water/water-dangersub/pdf/commps_report.pdf
- [164] GROUP, Polycarbonate/BPA. Welcome to the Bisphenol-A Website. *Bisphenol A*. 2003-2019. Dostupné také z: <http://www.bisphenol-a.org/>
- [165] EPA, The. *Phthalate Strategy*. Copenhagen, 2012.
- [166] RANDÁK, T. *Informace o výsledcích výzkumu cizorodých látek a zdravotního stavu ryb v řece Labi v roce 2003*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech., 2004.
- [167] ARNIKA, . Databáze chemických látek. *Arnika*. 1999.

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Počet látek identifikovaných ve vzorku městských dešťových vod [36]	20
Tabulka 2 Identifikace rizik spojených s využitím dešťových vod [35]	21
Tabulka 3 - „Prokázaná Xenobiotika.....	23
Tabulka 4 - Farmaka.....	30
Tabulka 5 - Nesteroidní farmaka.....	31
Tabulka 6 Neopiová analgetika – Antipyretika [29; 34].....	34
Tabulka 7 Nesteroidní antirevmatika.....	35
Tabulka 8 Vybrané typy antibiotik a jejich použití, negativní vliv nebo výskyt v matricích životního prostředí [60; 61; 62]:.....	39
Tabulka 9 Vybraný typ cytostatiky zjištěný ve vodním cyklu. [74; 77].....	43
Tabulka 10 Z hlediska psychofarmakologie je dělíme podle účinků na mentální funkci [82].....	44
Tabulka 11 Typy pokročilých oxidačních metod (AOPs) zkoumaných v souvislosti s odstraňováním Xenobiotika z odpadních vod [33].....	56
Tabulka 12 Sulfonamidy vybrané pro testování.....	92
Tabulka 13 – Účinnost odbourávání sulfonamidů v konvenčních ČOV [155].....	93
Tabulka 14 Záznam průběhu testu se substrátovými koši.....	96
Tabulka 15 Harmonogram průběhu Printscreen a Setup testů.....	99
Tabulka 16 Porovnání váhy jednotlivých kostek po ukončení testů.....	105
Tabulka 17 Souhrnný přehled výsledků Printscreen testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím Trametes versicolor.....	106
Tabulka 18 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím Trametes versicolor při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹	108
Tabulka 19 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím Trametes versicolor při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ po 3 dnech.....	109
Tabulka 20 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím Trametes versicolor při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ po 5 dnech.....	111
Tabulka 21 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím Trametes versicolor při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ po 7 dnech.....	112
Tabulka 22 Srovnání průměrné účinnosti eliminace sulfonamidových antibiotik po 3,5 a 7 denním testu.....	114

Tabulka 23 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 100 µg.l ⁻¹	115
Tabulka 24 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 100 µg.l ⁻¹ po 3 dnech.....	116
Tabulka 25 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 100 µg.l ⁻¹ po 5 dnech.....	118
Tabulka 26 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 100 µg.l ⁻¹ po 7 dnech.....	120
Tabulka 27 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 1 mg.l ⁻¹ – vzorek III1	122
Tabulka 28 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 1 mg.l ⁻¹ – vzorek III2.....	123
Tabulka 29 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 2 mg.l ⁻¹	124
Tabulka 30 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ v odpadní vodě.....	126
Tabulka 31 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ po 3 dnech v odpadní vodě	127
Tabulka 32 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ po 5 dnech v odpadní vodě.....	129
Tabulka 33 Souhrnný přehled výsledků Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ po 7 dnech v odpadní vodě.....	131
Tabulka 34 Souhrnný přehled průměrných hodnot účinnosti Setup testu eliminace sulfonamidových antibiotik prostřednictvím <i>Trametes versicolor</i> při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ v odpadní vodě v 3,5 a 7 dnu	133
Tabulka 35 Parametry vzorků souboru I v den zahájení testování	172
Tabulka 36 Ukončení testů vzorků I4 – I6 s koncentrací 20 µg.l ⁻¹ sulfonamidových antibiotik po 3 dnech, fotodokumentace ze dne 09.04.2018.....	172
Tabulka 37 Parametry vzorků souboru II v den zahájení testování.....	177

SEZNAM VZORCŮ

1 Rozdělovací koeficient v referenčním systému oktanol / voda	47
2 Rozdělování koeficient půda (sediment)/voda K_{OC}	47
3 Biokoncentrační faktor (BCF)	48
4 Výpočet hustoty	79
5 Výpočet hustoty Lufy	80
6 Celkový objem Lufy	80
7 Výpočet skutečného objemu na základě hierarchických struktur	80
8 Celkový objem pórů	80
9 Číslo pórovitosti	80
10 Výpočet volného prostoru v 3D kostce	81
11 Výpočet hmotnosti kostky	81
12 Výpočet počtu stěn v kostce	81

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Cesty úniků xenobiotik do vodního prostředí [37]	22
Obrázek 2 - Transformační procesy v rámci vodního cyklu – STP – Sewage treatment plant, dilution – rozředění, suspended matter – suspendované látky, volatilisation-volatilizace, degradation – degradace, partitioning – dělení, sedimentation/resuspension – sedimentace/resuspendace [38]	22
Obrázek 3 Schéma mechanismu působení antibiotik [56]	37
Obrázek 4 "Životní cyklus" cytostatik v životním prostředí, včetně počtu zkoumaných léků, studovaných procesů degradace a počtu zbývajících látek po každém stupni ošetření [76] Vysvětlivky zkratk : CHL- Chlormetine, MEL- Melphalan, PRE- Procarbazine, GEM- Gemcitabin, CYT- Cytarabine, CAP-Capecitabine, IFO- Ifosfamide, CYC-Cyclofosfamid, ETO- Etoposide, MPA- Kyselina mykofenolová, MEG-	42
Obrázek 5 Plynová chromatografie-hmotnostní spektrometrie [94]	53
Obrázek 6 Princip MIEXu	54
Obrázek 7 Dřevokazné houby (zleva) Phanerochaete chrysosporium [107], Trametes versicolor [102]	63
Obrázek 8 Dřevokazné houby (zleva) Pycnoporus cinnabarinus [108], Pleurotus sp. [109]	64
Obrázek 9 Dřevokazné houby (zleva) Bjerkandera adusta [110], Ganoderma lucidum	64
Obrázek 10 Ligninová Peroxidáza – Phanerochaete chrysosporium - [111]	65
Obrázek 11 Manganová peroxidáza – Pleurotus ostreatus [112]	65
Obrázek 12 Pyranóza 2-oxidáza z Trametes multicolor [113]	66
Obrázek 13 Původní houbová lakáza z Trametes hirsuta [114]	66
Obrázek 14 Základní struktura cytochromu P450 [115]	67
Obrázek 15 Trametes versicolor (Outkovka pestrá) [118]	67
Obrázek 16 Skleněný fluidizovaný bioreaktor o objemu 1500 ml s myceliárními peletami- [120]	68
Obrázek 17 Použití paletového dřeva jako pevného nosiče v provzdušňovaném reaktoru testovaném na nemocničních odpadních vodách [121]	69
Obrázek 18 Dřevní štěrpková kolonizovaná myceliem Phanerochaete chrysosporium BKM-1767 (ATCC 24725), Trametes versicolor (PPRI 3845) a Lentinula edodes (PPRI 5769) [125]	69
Obrázek 19 Schéma protiproudého průsakového bioreaktoru [122]	71
Obrázek 20 Schématický diagram provzdušňovaného bioreaktoru s plným ložem. S1 a S2, vzorkovací místa 1 and 2; D, odtok; RV, recirkulační objem. [123]	71

Obrázek 21 Srovnání odstranění naproxenu (a) a karbamazepinu (b) mezi reaktorem v protisměrném průsaku (- □ -; - ♦ -) a ponořeným modelem (- ■ -; - ◆ -) během prvních čtyř týdnů	72
Obrázek 22 Základní schéma technologického celku sestaveného v laboratoři AdMaS	73
Obrázek 23 Vnitřní koš z HDPE o rozměrech 500 x 400 x 300 mm	74
Obrázek 24 Laboratorní model zkonstruovaný pro potřeby projektu	75
Obrázek 25 Pískový filtr na odtoku z biofiltrační nádrže a detail skrápěcích ramen na nádrži č. 1	75
Obrázek 26 (zleva) Detail substrátu v koši vystlaného perlinkou a koš naplněný substrátem po skrápěcím cyklu	76
Obrázek 27 Vývoj nových hydrogelů se zabudovanými bakteriemi [132]	77
Obrázek 28 Obrázek detail hlavičky 3D tiskárny ORIGINAL PRUSA i3 MK2 při tisku 3D kostek	78
Obrázek 29 Vysušený plod rostliny Luffa Cylindrica [123,136]	79
Obrázek 30 Návrhové parametry kostky	81
Obrázek 31 (zleva) Návrh kostky o rozměrech 25 x 25 x 25 mm; Návrh kostky o rozměrech 25 x 25 x 15 mm zobrazeno v programu PrusaControl 09.4_415 beta	82
Obrázek 32 (shora) Návrhy kostek v programu Autodesk AutoCAD 2018, Nastavení tisku v programu PrusaControl	83
Obrázek 33 Grafická vizualizace kostek před tiskem v programu PrusaControl, detail kostky v programu PrusaControl, vytištěná 3D kostka (zleva)	84
Obrázek 34 Sběrné místo mateřských plodnic Trametes versicolor	85
Obrázek 35 Outkovka pestrá a Outkovka pásovaná rostoucí v lokalitě mezi částí obce Mrsklesy – Kovákov a obcí Hlubočky-Mariánské údolí v lednu roku 2018	85
Obrázek 36 Pevník plstnatý v lokalitě mezi částí obce Mrsklesy – Kovákov a obcí Hlubočky-Mariánské údolí	86
Obrázek 37 Hydroponní kostky z čedičové vaty od firmy Saint Gobain	87
Obrázek 38 - Vzorky po první inokulační fázi před uložením do temna	88
Obrázek 39 Proces inokulace vaječných plat a přerůstání mycelia z vaječných plat do substrátu	88
Obrázek 40 Růst mycelia v koších na substrátu	89
Obrázek 41 Sterilizované inokulační sklenice s předpřipravenými 3D kostkami na inokulaci, průběžná kontrola růstu mycelia pro Printscreen test (zleva)	89
Obrázek 42 Příprava mateřské plodnice Trametes versicolor na inokulaci, Inokulační sklenice před uložením do temna	90
Obrázek 43 (zleva) Roztok sulfonamidových antibiotik, Příprava modelové vody	94
Obrázek 44 (zleva) Modelová voda pro testování substrátu v koších, Slévání vzorku po ukončeném testování	95

Obrázek 45 Mateřské plodnice sesbírané dne 10.7. 2017 připravené k inokulaci košťů B a C	96
Obrázek 46 Vzorky připravené k převozu na FCh k vyhodnocení testování.....	97
Obrázek 47: Srovnání TIC chromatogramů analýzy matrice z výluhů testovaných nosičů houbového mycelia [155]	97
Obrázek 48 (zleva) Fotodokumentace odběrná místa přes a po odběru ze dne 15.03.201	100
Obrázek 49 Detail mycelia rostoucího na odběrném místě ze dne 15.03.2017	100
Obrázek 50 Printscreen test – vzorek – V1 bezprostřední po inokulaci, kontrola růst ze dne 20.03.2018	101
Obrázek 51 Printscreen test – vzorek – V2 bezprostřední po inokulaci, kontrola růst ze dne 20.03.2018	101
Obrázek 52 Printscreen test – vzorek – V3 bezprostředně po inokulaci, kontrola růst ze dne 20.03.2018	102
Obrázek 53 Vzorek V1 – kontrola růstu mycelia ze dne 23.03.2018.....	102
Obrázek 54 Vzorek V2 – kontrola růstu mycelia ze dne 23.03.2018.....	102
Obrázek 55 Vzorek V3 – kontrola růstu mycelia ze dne 23.03.2018.....	103
Obrázek 56 Odběrné místo před odběrem a po odběru ze dne 09.04.2018	104
Obrázek 57 Grafické srovnání výsledků Printscreen testu v účinnosti odbourávání	107
Obrázek 58 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Printscreen testu.....	107
Obrázek 59 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ jednotlivých antibiotik po 3 dnech	109
Obrázek 60 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 µg.l ⁻¹ po 3 dnech.....	110
Obrázek 61 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 µg.l ⁻¹ po 5 dnech.....	111
Obrázek 62 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ jednotlivých antibiotik po 3 dnech	112
Obrázek 63 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ jednotlivých antibiotik po 7 dnech.....	113
Obrázek 64 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 µg.l ⁻¹ po 7 dnech	113
Obrázek 65 Časová závislost odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ v kohoutkové vodě.....	114
Obrázek 66 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 100 µg.l ⁻¹ jednotlivých antibiotik po 3 dnech	116
Obrázek 67 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 100 µg.l ⁻¹ po 3 dnech.....	117

Obrázek 68 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 100 µg.l ⁻¹ jednotlivých antibiotik po 5 dnech	118
Obrázek 69 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 100 µg.l ⁻¹ po 5 dnech.....	119
Obrázek 70 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 100 µg.l ⁻¹ jednotlivých antibiotik po 7 dnech.....	120
Obrázek 71 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 100 µg.l ⁻¹ po 7 dnech	121
Obrázek 72 Časová závislost odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 100 µg.l ⁻¹ v kohoutkové vodě porovnání průměrných hodnot.....	122
Obrázek 73 Časový průběh účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 1 mg.l ⁻¹ vzorek III1.....	123
Obrázek 74 Časový průběh účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 1 mg.l ⁻¹ vzorek III2.....	124
Obrázek 75 Časový průběh účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 2 mg.l ⁻¹ vzorek I7	125
Obrázek 76 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ jednotlivých antibiotik po 3 dnech v odpadní vodě	127
Obrázek 77 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 µg.l ⁻¹ po 3 dnech v odpadní vodě.....	128
Obrázek 78 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ jednotlivých antibiotik po 5 dnech v odpadní vodě	129
Obrázek 79 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 µg.l ⁻¹ po 5 dnech v odpadní vodě.....	130
Obrázek 80 Grafické srovnání výsledků Setup testu při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ jednotlivých antibiotik po 7 dnech v odpadní vodě.....	131
Obrázek 81 Grafické porovnání zbytkových koncentrací sulfonamidových antibiotik u jednotlivých vzorků Setup testu – 20 µg.l ⁻¹ po 7 dnech v odpadní vodě	132
Obrázek 82 Časový průběh účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹ v odpadní vodě.....	133
Obrázek 83 Porovnání účinnosti odbourávání jednotlivých sulfonamidových antibiotik v kohoutkové a odpadní vodě při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹	134
Obrázek 84 Grafické porovnání celkové účinnosti odbourávání sulfonamidových antibiotik v kohoutkové a odpadní vodě při vstupní koncentraci 20 µg.l ⁻¹	135
Obrázek 85 Mycelium Trametes versicolor únor 2018.....	137
Obrázek 86 Příprava inokulace souboru I.....	169
Obrázek 87 - (zleva) Inokulace souboru I, Inokulační sklenice připravené k uložení do temna.....	169
Obrázek 88 Kontrola vzorku I1; I2; I3 ze dne 03.04.2018.....	170
Obrázek 89 Kontrola vzorku I4 a I5 ze dne 03.04.2018, I4 – Vykazuje anomálii ve formě světla zelené plísně v myceliu.....	170

Obrázek 90 Kontrola vzorku I6 a I7 ze dne 03.04.2018	170
Obrázek 91 Kontrola vzorku I1, I2 a I3 ze dne 05.04.2018	171
Obrázek 92 Kontrola vzorku I4 ze dne 05.04.2018 - ve vzorku stále přetrvává plíseň	171
Obrázek 93 Kontrola vzorku I5, I6, I7 ze dne 05.04.2018	171
Obrázek 94 Vzorky I4-I6 přelité do vzorkovacích lahví	173
Obrázek 95 Vizuální kontrola vzorku I7.....	174
Obrázek 96 Kontrola vzorku II1, II2, II3 ze dne 09.04.2018.....	175
Obrázek 97 Kontrola vzorku II4, II5, II6 ze dne 09.04.2018.....	175
Obrázek 98 Kontrola vzorku II7, II8 ze dne 09.04.2018.....	175
Obrázek 99 Kontrola vzorku II1 – II6 ze dne 09.04.2018.....	176
Obrázek 100 Kontrola vzorku II7, II8 ze dne 09.04.2018.....	176
Obrázek 101 Zahájení testování souboru II, postupně shora vzorky II1-II8.....	177
Obrázek 102 Vzorek III1 – (zleva) Před odběrem AG roztoku, zahájení testu, ukončení testu.....	180
Obrázek 103 Vzorek IV3 – (zleva) Po odsátí AG roztoku, zahájení testu, ukončení testu	181
Obrázek 104 Rozdíl v zabarvení jednotlivých vzorků souboru IV	181
Obrázek 105 Vzorek V5 – (zleva) Před odsátím AG roztoku, zahájení testu, ukončení testu testuončení testu.....	183

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AG	Agarovo-glukózový roztok
AOPs	Pokročilé oxidační procesy (Advanced Oxidative Processes)
ČOV	Čistírna/y odpadních vod
CAS	Konvenční způsob čištění odpadních vod aktivovaným kalem (Conventional Activated Sludge)
CNS	Centrální nervová soustava
DEHP	Di-2-ethylhexyl ftalát
E	Účinnost eliminace látky v procentech
ECD	Narušení hormonální rovnováhy organismů (Endocrine Disruption)
EE	Ethinylestradiol
EE2	17 β - Estradiol
EE3	Estriol
GAC	Granulované aktivní uhlí (Granular Activated Carbon)
HDPE	Polyethylen s vysokou hustotou
K_{biol}	Biodegradační konstanta
K_{kv}	Rozdělovací koeficient aktivovaný kal/voda
K_{ov}	Rozdělovací koeficient oktanol/voda (oktanol je modelem představujícím tukovou tkáň bioty)
LD50	Smrtelná dávka, 50 % úmrtnost (Lethal Dose, 50% Mortality) Jedná se o statisticky vypočtenou jednotlivou dávku látky, která pravděpodobně způsobí za definovanou dobu smrt 50 % jedinců, kterým byla podána. Hodnota LD50 se udává jako hmotnost testované látky na jednotku hmotnosti jedince (miligramy na kilogram).
MBR	Membránový reaktor
MF	Mikrofiltrace
M_m	Molekulová hmotnost
NF	Nanofiltrace
ORP	Oxidačně redukční potenciál vztažený vůči standardní vodíkové elektrodě
OV	Odpadní voda
PAC	Práškové aktivní uhlí (Powder Activated Carbon)
PAU	Polycyklické aromatické uhlovodíky
PE	Polyethylen
POPs	Persistentní organické polutanty
PPCP	Léčiva a produkty osobní péče (Pharmaceuticals and Personal Care Products)
PTS	Persistentní toxické látky (Persitent toxic substances)

RO	Reverzní osmóza
SDZ	Sulfadiazin
SMR	Sulfamerazin
SMX	Sulfamethoxazol
SMZ	Sulfamethazin
SPY	Sulfapyridin
STZ	Sulfathiazol
UF	Ultrafiltrace
XOC	Xenobiotické organické sloučeniny
ŽP	Životní prostředí

PŘÍLOHA DIZERTAČNÍ PRÁCE

ODBOURÁVÁNÍ VYBRANÝCH XENOBIOTIK NA KOMUNÁLNÍCH ČISTÍRNÁCH
ODPADNÍCH VOD

Ing. Adéla Žižlavská

PROTOKOL PRŮBĚHU INOKULACE A TESTOVÁNÍ SETUP TESTŮ

SOUBOR I

27. 03. 2018 – úterý 12:00 – Provedena inokulace souboru I. Pro soubor I bylo nainokulováno 7 sklenic o objemu 500 ml s označením I1, I2, I3, I4, I5, I6, I7. Do každé sklenice bylo vloženo 5 kostek o rozměru 25 x 25 x 15 mm a 5 mg mateřské plodnice houby *Trametes versicolor* naporcované na kousky o velikosti max. 2 x 2,5 cm. Následně bylo ke vzorkům přidáno 20 ml agarovo-glukózového roztoku a sklenice s alobalovým perforovaným překryvem byly uloženy do temna při pokojové teplotě.



Obrázek 86 Příprava inokulace souboru I



Obrázek 87 - (zleva) Inokulace souboru I, Inokulační sklenice připravené k uložení do temna

Kontrola postupu fruktifikace souboru I:

03. 04. 2018 – úterý – 11:00 – provedena vizuální kontrola všech vzorků a pořízena fotodokumentace. Ke každému vzorku bylo přidáno 5 ml AG roztoku. U vzorku I4 s v myceliu objevuje zelená plíseň.